Identifizierung organischer Substanzen durch „Elektronenbrenzen"

von

Otto Volkert

aus Fürth/Bay.

1963

Erlangen

1962 Nr. 28

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536505_0125

IDENTIFIZIERUNG ORGANISCHER SUBSTANZEN DURCH "ELEKTRONENBRENZEN"

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur
Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Otto Volkert
aus Fürth/Bay.

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Februar 1963

Dekan: Universitätsprofessor Dr. H. Volz
Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Schildknecht
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Diese Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie
der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen
in der Zeit von Januar 1961 bis Juli 1962
durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer,
Herrn Privatdozent Dr. H. S c h i l d k n e c h t ,
danke ich für die Themastellung und dafür, daß er
jederzeit bereit war, bei Schwierigkeiten mit wertvollen
Ratschlägen und neuen Ideen weiterzuhelfen.

Meinen lieben Eltern

1. Allgemeiner Teil

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. ALLGEMEINER TEIL

Zusammenfassung 1

1.1.) Die Wirkung von ß-Strahlen auf organische Materie 2

1.1.1.) Selbstzerfall markierter Verbindungen 2

1.1.2.) Stoßionisation und Bildung von thermischen Elektronen 3

1.2.) Zersetzung in Tritiumwasser 4

1.2.1.) Elektronenbrenzen von Carbonsäuren 6

1.2.2.) Elektronenbrenzen von Alkoholen 12

1.2.2.1.) Aktivitätsbestimmungen von Dünnschichtplatten 14

1.2.3.) Elektronenbrenzen von Doppelbindungen 17

1.2.4.) Elektronenbrenzen von Aminosäuren 22

1.2.5.) Verwendung des Elektronenbrenzens als Analysenmethode 32

1.2.5.1.) Theoretische Gesichtspunkte 32

1.2.5.2.) Carbonsäuren aus Aminosäuren 35

1.2.5.3.) NH_3 aus Aminosäuren 36

1.2.5.4.) CH_3OH bzw. C_2H_5OH aus höheren Alkoholen 37

1.2.5.5.) Resorcin aus ß-Resorcylsäure 37

1.2.5.6.) Zusammenfassung und Ausblick 38

2. EXPERIMENTELLER TEIL

1.) Carbonsäuren

1.1.) Bestrahlung und Identifizierung der Carbonsäuren 40

1.2.) Synthese der ^{14}C-Benzoesäure 41

1.3.) Synthese der T-Benzoesäure 43

1.4.) Quantitative Bestimmung der Aktivitäten der beiden markierten Benzoesäuren 43

1.5.) Nachweis des beim Dekarboxylieren entstandenen $^{14}CO_2$ 46

2.) Alkohole
2.1.) Elektronenbrenzen von Alkoholen 46
2.2.) Aktivitätsbestimmungen von Dünnschichtplatten 47
3.) Elektronenbrenzen von Doppelbindungen 48
4.) Elektronenbrenzen von Aminosäuren 49
5.) Verwendung des Elektronenbrenzens als Analysenmethode 51

Zusammenfassung

Ausgehend von einfachen chemischen Verbindungen versuchten wir festzustellen, auf welche Weise bei Markierungsversuchen die Zersetzung organischer Verbindungen durch Strahleneinwirkung vor sich geht und ob sich aus der Kenntnis der Zerfallsbruchstücke gewisse Regeln und Gesetzmäßigkeiten ableiten lassen. Es wurde deswegen die Einwirkung von Elektronen auf organische Substanzen, das Elektronenbrenzen, theoretisch und praktisch untersucht.

Danach dekarboxylieren Carbonsäuren durchwegs. Der G-Wert für Benzoesäure, die an der Carboxylgruppe ^{14}C-markiert war, wurde zu 0,47 ermittelt.

Die Alkohole Hexanol und Cyclohexanol wurden in die entsprechenden Carbonylverbindungen übergeführt. Die Zersetzung des cyclischen Alkohols war dabei bedeutend größer.

Doppelbindungen wurden unter Bildung des entsprechenden Glykols aufgesprengt. Durch Oxydation entstanden daraus wiederum die Carbonylverbindungen. Wurde nicht eine wässrige Lösung, sondern die reine, feste Substanz bestrahlt, so entstand das entsprechende Epoxyd.

Aminosäuren wurden in erster Linie an der C-N Bindung gespalten. Es entstanden NH_3 und die zugehörigen Carbon- bzw. Oxysäuren. In geringerer Menge erhielten wir die durch Oxydation der Oxysäuren entstandenen Ketosäuren, bzw. die durch Reaktion von 2 Säurebruchstücken entstandenen einfachen-, Oxy- und Amino-Dicarbonsäuren.

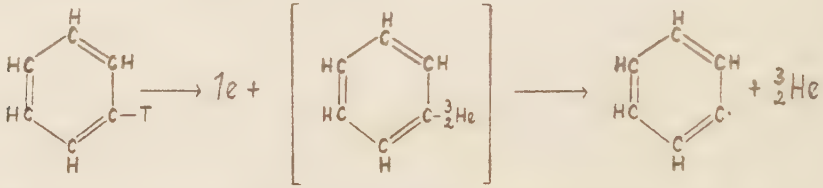
Die Möglichkeiten für eine Verwendung als analytische Methode sowie die möglichen Grenzkonzentrationen der zu bestimmenden Verbindungen wurden theoretisch diskutiert und an Hand einiger Beispiele experimentell bewiesen.

1.1. Die Wirkung von ß-Strahlen auf organische Materie.

1.1.1. Selbstzerfall markierter Verbindungen.

Die Strahlenquellen, die wir bei unseren Versuchen benutzten, waren die relativ niederenergetischen ß-Strahler Tritium ($^{3}_{1}H$ = T) mit einer maximalen Elektronenenergie von 18,6 keV und Radiokohlenstoff ($^{14}_{7}C$) mit 155 keV.
Zerfällt ein T-Atom, so entstent $^{3}_{2}He$, bei $^{14}_{6}C$ $^{14}_{7}N$. Ein ^{14}C-markiertes Benzolmolekül würde beim radioaktiven Zerfall demnach in ein Pyridinmolekül übergehen:

Bei der entsprechenden T-Verbindung wird ^{3}He abgespalten werden und es entsteht ein Phenylradikal:



Diese Vorgänge sind schwer experimentell nachzuweisen, da die Zerfallsprodukte in zu geringer Konzentration entstehen. Für das Beispiel des C_6H_5-T errechnet sich z.B. für eine spezifische Aktivität von 1mC/mmol folgende ^{3}He bzw. C_6H_5-Menge für 1mmol Benzol:

$dN = 10^{-3} \cdot 3{,}7 \cdot 10^{10}$ Moleküle/sec. $= 0{,}53 \cdot 10^{-11}$ Mol/Tag.

(dN = Größe der pro Zeiteinheit zerfallenden Stoffmenge).

Das entspricht einer ^{3}He-Menge von $1{,}59 \cdot 10^{-11}$ g und liegt aus diesem Grunde außerhalb jeder chemischen Nachweisgrenze. Analoge Verhältnisse gelten für die ^{14}C-Verbindungen.
Bei allen Betrachtungen über die Wirkung von Elektronen auf organische Materie können wir also diesen Effekt des Selbstzerfalls von markierten Verbindungen vernachlässigen und es bleibt zu diskutieren, welcher Art die Wirkungen der ausgesandten Elektronen auf die die Strahlungsquelle umgebenden Moleküle sind.

1.1.2. Stoßionisation und Bildung von thermischen Elektronen.

Trifft ein schnelles Elektron ein organisches Molekül, so tritt Stoßionisation ein. Entlang der Elektronenbahn entsteht ein "track" von positiven Ionen, während die herausgeschlagenen Sekundärelektronen, die nach allen Seiten entweichen, eine Art Mantel um diesen track bilden[1]. Ob das positive Ion stabil ist, hängt von den Potentialkurven ab. Es gelten hier analoge Gesetze wie bei den negativen Ionen, die sich durch Elektroneneinfang eines neutralen Moleküls bilden können. Auch können positive Ionen, durch thermische Elektronen oder andere negative Ionen neutralisiert, hochangeregte Produkte bilden, deren Anregungsenergie gewöhnlich die Bindungsenergie übertrifft und die dann ebenfalls zerfallen. Als Spaltprodukte können dabei Moleküle, Ionen und Radikale entstehen, von denen gewöhnlich eines wiederum angeregt ist, wobei die Anregungsenergie aber nicht mehr zum Zerfall ausreicht.
Es ergeben sich also für ein Stoffgemisch A,B folgende Reaktionsmöglichkeiten.

A.) 1.) $A + e \longrightarrow A^+ + 2e$

2.) $B + e \longrightarrow B^-$

3.) $A \text{ oder } B + e_{schnell} \longrightarrow A^* \text{ oder } B^* + e_{langsam}$

B.) 1.) $A^+ + e \longrightarrow A^*$

2.) $A^+ + B^- \longrightarrow AB^*$

C.) 1a.) $AB^* \longrightarrow$ Molekülbruchstücke
1b.) $AB^* \longrightarrow$ Radikalbruchstücke

2a.) $A^*, B^* \longrightarrow$ Molekülbruchstücke
2b.) $A^*, B^* \longrightarrow$ Radikalbruchstücke

3.) $B^- \longrightarrow$ Ion + Radikal oder Molekül

4.) $A^+ \longrightarrow$ Ion + Radikal oder Molekül

Eine starke Vereinfachung der Verhältnisse tritt allerdings dadurch ein, daß von zwei Stoffen A und B A z.B. ein tieferes Ionisationspotential besitzt als B. So entstehen, wenn es die reaktionskinetischen Verhältnisse in der Mischung erlauben,

praktisch nur A^+ Ionen. Selbst wenn primär B^+ Ionen gebildet wurden, werden diese mit A - Molekülen weiterreagieren nach:

$$B^+ + A \longrightarrow B + A^+ \quad (+ \text{Energie})$$

Das Gleiche gilt für die Anregungsenergieen von Molekülen. Auch hier entstehen bei $E_A > E_B$ praktisch nur angeregte Moleküle B.
Bewiesen wurde diese Tatsache an Benzol - Toluolgemischen[2]. Da $I_{Toluol} < I_{Benzol}$ (I = Ionisationspotential des betreffenden Stoffes), so wird in Benzol - Toluolmischungen nur das Toluol angegriffen und das Benzol geschützt.
Es erhebt sich nun die Frage, ob der Zerfall der angeregten Moleküle bzw. weiterhin das Reagieren der einzelnen radikalischen, ionischen oder neutralen Bruchstücke wahllos nach statistischen Regeln oder irgendwie gerichtet vor sich geht. Nach den bisherigen Ergebnissen der Strahlenchemie scheint man, mit gewissen Einschränkungen, das Letztere bejahen zu können.
Man fand z.B. bei Kohlenwasserstoffen, die einen aromatischen Ring und eine aliphatische Seitenkette enthalten, daß das angeregte Molekül fast durchwegs durch Abspalten der aliphatischen Seitenkette zerbricht. Beim Bestrahlen von Toluol mit γ-Strahlen erhielt man Äthan, Methan und Benzol. Derartige Regeln gelten jedoch alle nur mit Einschränkungen. So entsteht aus Toluol, das an der CH_3 - Gruppe mit Tritium markiert ist, auch unmarkiertes Äthylen und Acetylen[3]. Dies beweist, daß auch der benzolische Kern zerfällt. Desgleichen entsteht beim Bestrahlen organischer Verbindungen immer eine bedeutende Menge an Wasserstoff, obwohl die C - H Bindung an und für sich besonders stabil ist. Eine gewisse Statistik im Aufbrechen der einzelnen Bindungen ist also nicht ohne weiteres zu vernachlässigen und das angeregte Molekül oder Ion scheint beim Zerfall zwar überwiegend aber nicht ausschließlich an der schwächsten Stelle auseinanderzubrechen.

1.2. Zersetzung in Tritiumwasser.

1.2.1. Allgemeine Gesichtspunkte.

Für unsere Versuche zum Elektronenbrenzen benutzten wir als β-Strahler Tritiumoxyd. Bei einer Aktivität von 200 mC pro ml ergibt sich dabei eine Tritiumkonzentration von $4{,}17 \cdot 10^{18}$ Atomen

Tritium pro ml. Das ergibt ein Verhältnis von H/T = $1{,}6 \cdot 10^4$. Wir können die Konzentration der Tritiumatome in unserem überschweren Wasser also praktisch gleich Null setzen. Das Molverhältnis von Tritiumoxyd zu bestrahlter Substanz schwankte in unseren Versuchen zwischen 5:1 und 30:1. In erster Näherung ist es also richtig anzunehmen, daß von den Elektronen primär hauptsächlich Moleküle des Lösungsmittels getroffen werden. Daß dennoch die Zerstörung und Markierung der gelösten Stoffe in erheblichen Ausmaß vonstatten geht, hängt mit dem bereits besprochenen Effekt der Ladungs- und Anregungsenergieübertragung der Moleküle untereinander zusammen. Im Gegensatz zu Aromaten, die mit ihrem tiefen Anregungs- und Ionisationspotentialen eine Art Schutzwirkung für die meisten organischen Stoffe übernehmen können, ist bei H_2O gerade das Umgekehrte der Fall. Sowohl die Ionisations- als auch die Anregungsenergieen liegen bei Wasser extrem hoch (erster angeregter Triplettzustand = = 7,5 eV) und es ist deshalb sehr wahrscheinlich, daß gelöste organische Teilchen durchwegs angeregt und ionisiert werden, ohne direkt getroffen zu werden. Trotzdem überwiegen in der Lösung natürlich die Bruchteile des zerstörten Lösungsmittels und rufen gegenüber der Strahlenwirkung auf reine Stoffe einige Komplikationen hervor. Durch die Wechselwirkung der Elektronen mit H_2O sind folgende Reaktionen möglich:

1.) $H_2O + e \longrightarrow H_2O^+ + 2e$

2.) $H_2O + e \longrightarrow H_2O^-$

3.) $H_2O + e_{schnell} \longrightarrow H_2O^* + e_{langsam}$

Als Folgereaktionen entstehen:

1.) $H_2O^+ \longrightarrow H^+ + OH$

2.) $H_2O^- \longrightarrow H\cdot + OH^-$

3.) $H_2O^* \longrightarrow H\cdot + \cdot OH$

Die H und OH Radikale können sich einerseits wieder zu H_2O, andererseits aber auch nach

$$H\cdot + \cdot H \longrightarrow H_2$$

bzw. $$\cdot OH + \cdot OH \longrightarrow H_2O_2$$

zu Wasserstoff und Hydroperoxyd vereinigen.

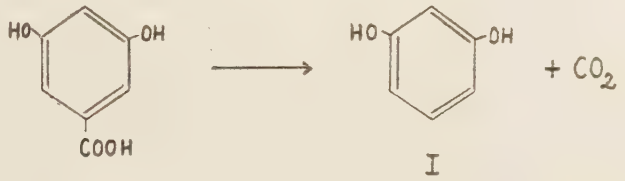
Im Gegensatz zu Ebert[4] konnten wir in Tritiumoxyd von einer spez. Aktivität von 0,1 μC/ml weder mit Titanylsulfat H_2O_2, noch mit HJ eine oxydierende Wirkung nachweisen; doch zeigte Benzol, mit dem wir wir THO extrahierten, gegen Leukomethylenblau eine erhebliche Oxydationswirkung, die bei der quantitativen Bestimmung einer H_2O_2-Konzentration von 0,15 mg/ml äquivalent war[5]. Sicher ist also, daß man auch in THO reduzierende und vor allem oxydierende Reaktionsabläufe zu erwarten hat, die die einzelnen Zerfallsreaktionen der bestrahlten, organischen Stoffe noch weiter komplizieren.

1.2.2. Elektronenbrenzen von Carbonsäuren.

Für unsere Elektronenbrenzreaktionen wählten wir zunächst eine Verbindungsgruppe, die gegen derartige Oxydations- und Reduktionsvorgänge beständig ist, die Carbonsäuren.
Bei unseren Arbeiten gingen wir dabei so vor, daß wir geringe Mengen des zu bestrahlenden Stoffes in einer kleinen Glasampulle mit überschweren Wasser versetzten und nach dem Abschmelzen die Ampulle längere Zeit auf 100 bis 200°C erhitzten. Anschließend wurde ein Tropfen papierchromatographiert und auf dem Radiochromatogramm die nun markierte Säure bzw. eventuelle Zersetzungsprodukte nachgewiesen. Vor dem Chromatographieren wurde der Start gewöhnlich 15 - 20 min. kalt beföhnt, um das überschüssige, tritiumhaltige Wasser zu entfernen, da sonst regelmäßig ein zu hoher "Background" entstand, der das Auffinden geringaktiver Verbindungen auf dem Chromatogramm schwierig machte. Um Vergleichs-R_f-Werte in anderen Lösungsmittelsystemen zu erhalten, wurden die aktiven Stellen des Chromatogramms mit wenig H_2O eluiert, wenn nötig durch normales Erstarren angereichert[6] und erneut chromatographiert. Der Background war dann gewöhnlich so niedrig, daß er sich kaum vom normalen Nulleffekt unterschied und es wurden auf diese Weise sehr gute Ergebnisse erzielt.
Bei Ameisensäure und Essigsäure fanden wir nur die markierten Säuren. Wenn überhaupt eine Zersetzung eintrat, schien sie offensichtlich wie beim Bestrahlen mit α und γ-Strahlen in einem Dekarboxylieren zu bestehen[7,8].

Den Nachweis für das Dekarboxylieren erbrachten wir auf 2 Arten. Als erstes wählten wir solche Säuren, bei denen der verbleibende Rest nicht flüchtig und chromatographisch nachzuweisen war. Dann markierten wir die Carboxylgruppe von Benzoesäure mit ^{14}C und wiesen das entstandene $^{14}CO_2$ nach.

Bei ß-Resorcylsäure konnten wir das Produkt der Dekarboxylierung, das Resorcin (I), fassen, also die gleiche Verbindung, die auch beim Erhitzen der Säure auf 150°C entsteht.



In Analogie zu dieser leichten Brenzreaktion nannten wir den mit Elektronen erzeugten Zersetzungsvorgang Elektronenbrenzen und dachten daran, solche Reaktionen analytisch zu verwerten, wie das des öfteren bei der thermischen Reaktion geschieht. Beim Elektronenbrenzen ist nun das aktive Reaktionsprodukt papierchromatographisch leicht nachweisbar; vgl. Abb. 1 und Tabelle 1.

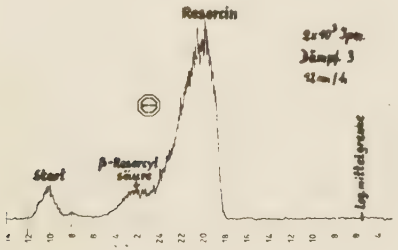


Abb. 1

ß-Resorcylsäure, chromatographiert in gesättigter NaCl-Lösung.

Lösungsmittelsystem.	ß-Resorcylsäure	Resorcin	gefundene Piks im Chromatogr.
gesättigte Kochsalzlösung	0,29	0,5	0,28 + 0,485
C_6H_6/Propions're/H_2O 2 2 1	0,395	0,56	0,385 + 0,56

Tab. 1

Die beiden Flecken konnten außerdem durch ihre verschiedene Fluoreszenz im UV-Licht (ß-Resorcylsäure gelb, Resorcin dunkel, fluoresziert nicht), sowie durch chemischen Nachweis des Resorcins mit Phosphormolybdänsäure/NH_3 und der ß-Resorcylsäure mit Bromphenolblau unterschieden werden. Knapp oberhalb des Startpunkts befand sich in Spuren eine weitere Substanz, die außer im Radiochromatogramm auch an ihrer hellen Fluoreszenz im UV-Licht zu erkennen war. Es handelt sich hierbei um eine hydrophilere Verbindung, wahrscheinlich um eine aromatische Säure mit mehr als 2 OH-Gruppen im Kern. Derartige OH-Substitutionen treten bei Bestrahlung in H_2O oft auf und sind bereits nachgewiesen[9].

Bei Mandelsäure (II) erhielten wir nach dem Chromatographieren in Bu/Äth/NH_3/H_2O einen zusätzlichen Pik an der Lösungsmittelgrenze. Durch Dekarboxylieren würde Benzylalkohol (III) bzw. durch nachfolgende Oxydation Benzaldehyd (IV) und Benzoesäure (V) entstehen:

$$\underset{\text{II}}{C_6H_5\text{-}CHOH\text{-}COOH} \longrightarrow CO_2 + \underset{\text{III}}{C_6H_5\text{-}CH_2OH}$$

$$\underset{\text{III}}{C_6H_5\text{-}CH_2OH} \xrightarrow{O} \underset{\text{IV}}{C_6H_5\text{-}CHO} \xrightarrow{O} \underset{\text{V}}{C_6H_5\text{-}COOH}$$

Da III papierchromatographisch schlecht nachgewiesen werden kann, versuchten wir den Aldehyd IV zu fassen. Wir gaben dabei direkt zu einer Lösung von Mandelsäure in THO in einem Raströhrchen eine phosphorsaure DNP-Lösung, schmolzen das Röhrchen ab und ließen es einen Tag stehen. Wir hofften dadurch wenigstens einen Teil des primär entstandenen Aldehyds sofort als DNP abfangen zu können. Die Lösung wurde anschließend ein paarmal mit Äther extrahiert und die vereinigten und eingedunsteten Ätherlösungen chromatographiert. Es ergab sich, daß neben Acetaldehyd, der wahrscheinlich aus dem Äther stammte und bei diesem Verfahren fast immer auftrat, stets geringe Mengen Benzaldehyd vorhanden waren. Der schwach gelbe Fleck lief in in folgenden Lösungsmitteln auf Dünnschicht mit einer Blindprobe Benzaldehyd-DNP gleich (Tabelle 2)

Chloroform - Benzol 1:1	Laufstrecke	6,7 cm
Chloroform	"	8,5 cm
Isoamyläther - Benzol	"	9,2 cm

Tabelle 2

Die Laufstrecke der Lösungsmittelfront betrug dabei 10 cm. Die Auswertung der Aktivität eines Dünnschichtchromatogramms ergab Abb.2.

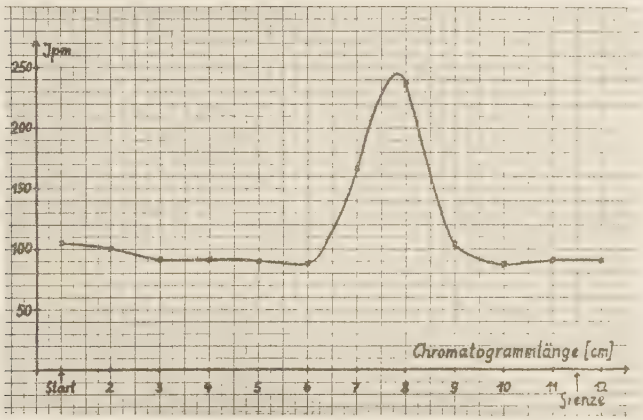


Abb. 2
DNP des Zerfallsproduktes aus Mandelsäure chromatographiert auf Dünnschicht. Fließmittel Chloroform - Benzol 5:1.

Man muß bei derartigen Aktivitätsmessungen von Aldehyd-DNPs, die nur an der Aldehydgruppe T-markiert sind, allerdings berücksichtigen, daß dieses Wasserstoffatom nur labil gebunden ist und leicht wieder rückaustauscht. Nachdem wir das DNP über eine Kieselgelsäule mit Chloroform gereinigt hatten, war die Aktivität vollständig verschwunden. Es ist daher ratsam, in solchen Fällen mit Lösungsmitteln ohne aktiven Wasserstoff zu arbeiten (CCl_4), um einen derartigen Rückaustausch zu vermeiden.

Bei Bernsteinsäure (VI) erhielten wir, neben markierter Säure als Hauptpik, auf dem Radiochromatogramm noch geringe Mengen an markierter Propionsäure (VII).

$$\underset{\text{VI}}{HOOC-CH_2-CH_2-COOH} \longrightarrow \underset{\text{VII}}{CH_3-CH_2-COOH} + CO_2$$

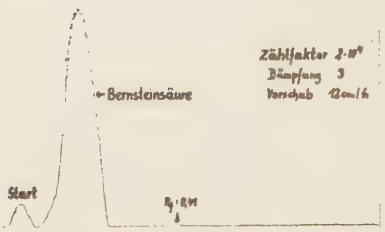


Abb. 3
Gesamtchromatogramm
(chrom. in Bu/Äth/NH_3/H_2O)

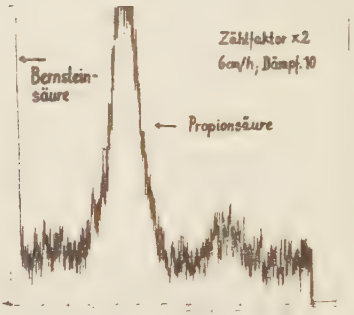


Abb. 4
Chromatogrammbereich um R_f-Wert 0,41 nach 100-facher Verstärkung.

Die R_f-Werte stimmten in mehreren Lösungsmitteln mit den Blindproben überein; vgl. Tabelle 3.

Lösungsmittelsystem	Bernsteins're	Propions're	gefundene Piks im Chromatogr.
n-Bu/Äth/NH_3/H_2O 4 4 1 1	0,15	0,40	0,15 + 0,41
Äth/NH_3/H_2O 80 4 16	0,22	0,55	0,23 + 0,54
n.Bu/1,5n NH_3	-	0,18	0,18

Tabelle 3.

Zum Nachweis des bei der Dekarboxylierung frei werdenden CO_2 wurden radioaktive Benzoesäuren einmal mit ^{14}C in der Carboxylgruppe und zum anderen mit T in p-Stellung zur Carboxylgruppe synthetisiert.

Zur Synthese der ^{14}C-Benzoesäure wurde im wesentlichen nach der Vorschrift von W.G.Dauben, J.C.Reid und P.E.Yankwich[10] gearbeitet. Dabei wurde in einer geschlossenen Apparatur das aus $Ba^{14}CO_3$ entwickelte $^{14}CO_2$ auf eine ätherische Phenylmagnesiumbromidlösung einwirken lassen:

$$C_6H_5-Mg-Br + {}^{14}CO_2 \longrightarrow C_6H_5-{}^{14}C\overset{O-MgBr}{\underset{O}{\leq}}$$

Die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes zur Benzoesäure geschah auf die übliche Art und Weise.
Zur Synthese der T-Benzoesäure wurde die aus p-Bromtoluol mit Mg hergestellte Grignardverbindung in einem kleinen Reaktionskolben mit Rückflußkühler vorsichtig mit einer berechneten Menge THO zersetzt:

$$Br\text{-}Mg\text{-}C_6H_4\text{-}CH_3 \quad + \quad THO \longrightarrow MgOHBr \quad + \quad T\text{-}C_6H_4\text{-}CH_3 \quad (+ \; C_6H_5CH_3)$$

Nach statistischen Gesetzen entsteht dabei markiertes und nicht markiertes Toluol zu gleichen Teilen. Das gebildete Toluol wurde mit Äther ausgezogen und destilliert. Anschließend wurde es mit $KMnO_4$ zu Benzoesäure oxydiert. Die Aktivitäten der erhaltenen Säuren wurden im Gasfüllzählrohr nach Simon Bestimmt[11].
Nun unternahmen wir folgende Versuche.
Bestimmte Mengen beider Säuren wurden in 2 W-förmig gebogenen Glasrohren jeweils in den einen Schenkel gebracht. In die anderen Schenkel wurde verdünnte NaOH eingefüllt; (Abb. 5)

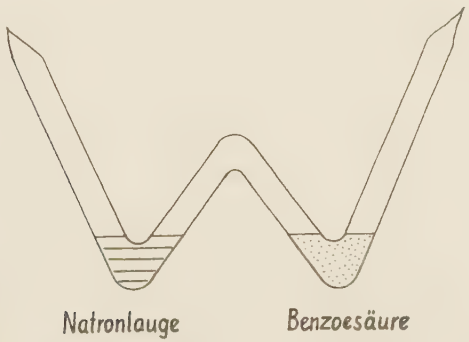


Abb. 5
W-förmiges Glasrohr zum Nachweis des durch Dekarboxylieren entstandenen $^{14}CO_2$.

Die Glasrohre wurden abgeschmolzen und längere Zeit im Kühlschrank stehen lassen. Unser Gedankengang war dabei folgender: wenn ^{14}C-Benzoesäure unter dem Einfluß ihrer eigenen β-Strahlung dekarboxyliert, so mußte das entstandene $^{14}CO_2$ in der Natronlauge wiederzufinden sein. Da jedoch auch Benzoesäure selbst einen bemerkenswerten Dampfdruck besitzt und eine vorhandene Aktivität in der Natronlauge deshalb auch von übergegangener Benzoesäure stammen könnte, arbeiteten wir, außer bei tiefer Temperatur, im Parallelversuch mit T-markierter Säure. Eine in

diesem Fall in der Lauge vorhandene Aktivität kann nur aus übergegangener T-haltigen Benzoesäure herrühren. (In der Meßapparatur nach Simon benutzten wir nicht eine Azeton/Trockeneismischung zum Ausfrieren von entstandenen Wasser, sondern absorbierten es mit P_2O_5. Es war deshalb möglich, daß vorhandene Benzoesäure über diese Falle hinaus in die Apparatur und damit ins Zählrohr gelangte).

Wir erhielten folgende Meßergebnisse:

Aktivität der Lauge des Rohres mit ^{14}C-Benzoesäure: 2567 Ipm

Aktivität der Lauge des Rohres mit T-Benzoesäure: 35 Ipm

Die Bestrahlungsdauer betrug 120 Tage.
Bei den Ergebnissen ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Aktivität der verwendeten ^{14}C-Benzoesäure und damit auch des entstandenen $^{14}CO_2$ das 5,5-fache der Aktivität der T-Benzoesäure betrug. Die zu vergleichenden Betrachtungen korrigierten Impulszahlen würden also lauten:

2567 Ipm bei ^{14}C-Benzoesäure

192 Ipm bei T-Benzoesäure

Es verbleiben also 2375 Ipm für entstandenes $^{14}CO_2$, ein sicherer Beweis für das Dekarboxylieren der bestrahlten Benzoesäure.

1.2.2. Alkohole.

Durch die relativ gute Übereinstimmung der Ergebnisse beim Bestrahlen von Säuren mit α oder γ-Stranlen und mit ß-Strahlen des Tritiumwassers, erwarteten wir auch hier ähnliche Ergebnisse wie in der Literatur beim Bestrahlen von Alkoholen mit α und γ-Strahlen angegeben wurden[12]. Als Hauptreaktionsprodukte wurden in den meisten Literaturstellen Wasserstoff, Glykole und Aldehyde angegeben. Da uns zum Nachweis des Wasserstoffs die entsprechenden Apparaturen fehlten, konzentrierten wir uns in erster Linie auf die Glykole und Aldehyde bzw. deren Oxydationsprodukte, die Carbonsäuren.
Bei Hexanol und Cetylalkohol verlief die Prüfung auf die entsprechenden Säuren negativ. Hexanol wurde in n-Bu/1,5n NH_3, Cetylalkohol auf mit Petroleum imprägnierten Papier in 95%iger

Essigsäure chromatographiert. In beiden Fällen erhielten wir keinerlei Pik an der Stelle der Capron- bzw. Palmitinsäure. Auch die Prüfung auf Glykol (chromatographisch in Äthanol-Chloroform 2:8) blieb ohne Ergebnis. Ein positives Ergebnis brachte jedoch die Prüfung auf Aldehyd. Wie beim Benzaldehyd setzten wir auch hier in einem Raströhrchen die Hexanol/THO Mischung mit 2,4-DNP um, extrahierten mit Benzol und reinigten den Extrakt über eine Kieselgelsäule (Kieselgel G der Fa.Merck) mit Chloroform. Es ergaben sich 2 gelbe Zonen. Die erste stellte das DNP des gesuchten Hexanals dar, die zweite war wiederum Acetaldehyd-DNP. In den Lösungsmitteln
Benzol - Chloroform (1:1), Chloroform, Benzol - Isoamyläther (1:1) und Essigester - Chloroform - Benzol (1:3:6) liefen auf der Dünnschicht das gesuchte Hexanal-2,4-DNP und eine Blindprobe von reinem Hexanal-2,4-DNP gleich.
Die Aktivitätsverteilung eines Chromatogramms zeigt Abb.6.

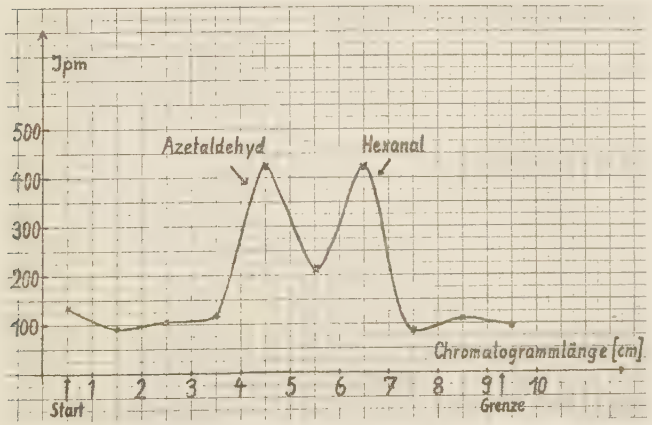


Abb. 6
2,4-DNP des Hexanolzerfallsproduktes chromatographiert auf Dünnschicht.
Fließmittel:
$CHCl_3$ - Benzol
1 1

Außerdem waren die IR-Spektren der beiden 2,4-DNPs identisch.

Versuche mit Cyclohexanol zeigten, daß cyclische Alkohole viel unbeständiger gegen das oxydierende Medium des Tritiumoxyds sind, als n-Hexanol. Die Menge der entstandenen Carbonylverbindung war in diesem Fall derart groß, daß ihr 2,4-DNP in Form einiger orangegelber Kristalle ausfiel. Nach dem Extrahieren und Reinigen ergab das 2,4-DNP auf der Dünnschichtplatte mit Benzol-Chloroform einen gelben Fleck, der mit einer Cyclohexanon-2,4-DNP Blindprobe gleich lief. Die Aktivitätsverteilung ergab ebenfalls einen Pik an dieser Stelle (Abb. 7).

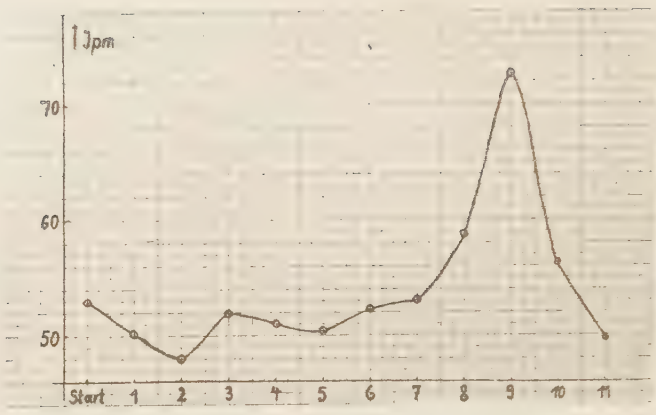


Abb. 7

2,4-DNP des Cyclohexanolzerfallsproduktes chromatographiert auf Dünnschicht. Fließmittel: Benzol - Chloroform 1:1.

Auch das IR-Spektrum stimmte mit dem des Cyclohexanon-2,4-DNPs überein, desgleichen das UV-Spektrum ($\lambda_{max.}$ = 337 mμ).

1.2.2.1. Bestimmung der Aktivitätsverteilung einer Dünnschichtplatte mit dem Methandurchflußzählrohr.

Wir gingen bei unseren Messungen so vor, daß wir das zu untersuchende Chromatogramm (Streifenbreite gewöhnlich 1 cm) in 0,5 oder 1 cm lange Strecken unterteilten, diese Teile einzeln abschabten und die Aktivitäten in kleinen Aluminiumschälchen in einem Methandurchflußzählrohr (FH 51 der Fa. Frieseke und Höpfner) bestimmten.

10 verschiedene Messungen ein und derselben Probe, ohne zwischendurch die Oberfläche zu verändern, ergaben eine maximale Abweichung vom Mittelwert von ±4,5% (=der statistische Fehler bei der gegebenen Impulsrate und Meßzeit). Reihenversuche mit Vergleichsproben vorgegebener Aktivität ergaben, daß der Fehler bei Veränderung der Oberfläche (±5,5%) erstaunlich nahe am statistischen Fehler lag.

Nicht erklärbar war, warum beim längeren Liegenlassen der Proben an der Luft oder im Methanstrom des Durchflußzählers die Aktivitäten des gesamten Chromatogramms regelmäßig anstiegen, die Zählausbeuten also besser wurden.

Zur Ermittlung des genauen R_f-Wertes berücksichtigt man die Aktivitäten der beiden vor bzw. hinter dem aktiven Zentrum liegenden Proben und errechnet die Schwerelinie des Kurvenintervalls. Beweisen konnten wir diese Methode folgendermaßen. Wir bestimmten die Aktivitätsverteilung eines Papierchromatogramms im Radiopapierchromatographen. Es ergab sich als R_f-Wert der vorhandenen aktiven Verbindung 0,27. Anschließend zerschnitten wir das Chromatogramm in 1 cm lange Streifen und maßen die Aktivitäten der einzelnen Streifen im oben erwähnten Methandurchflußzähler. Wir erhielten dabei folgende Verteilung (Abb. 8).

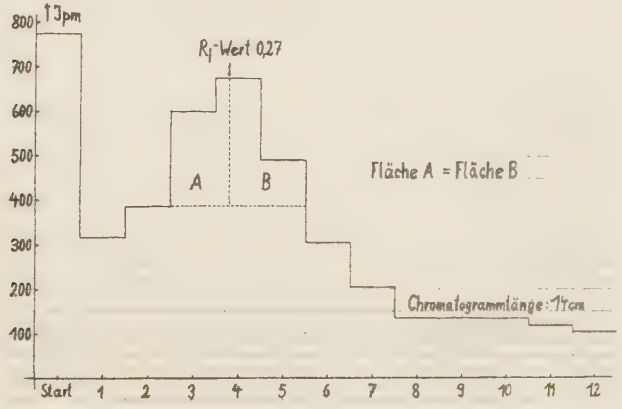


Abb. 8

Aktivitätsverteilung des Papierchromatogramms bei 1cm - weisem Ausmessen im FH 51.

Die aktive Stelle lag zwischen den R_f-Werten 0,25 und 0,32. Das arithmetische Mittel betrug 0,285. Der R_f-Wert der Schwerelinie eines größeren Kurvenabschnitts lag bei 0,27, betrug also praktisch den theoretischen Wert.

Zum Vergleich mit der Radiopapierchromatographie wurden verschiedene Mengen ^{14}C-markierter Benzoesäure sowohl auf Papier, als auch auf Dünnschicht chromatographiert. Das Ergebnis zeigt Abb. 9. Die Zählausbeuten waren auf der Dünnschicht um das 3 bis 4-fache höher.

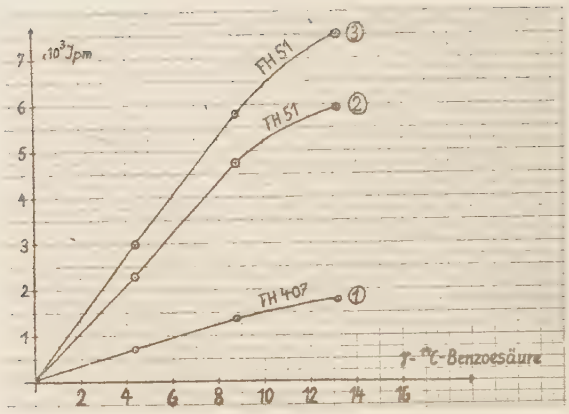


Abb. 9

Erhaltene Impulsraten bei bestimmten, vorgegebenen Mengen von ^{14}C-Benzoesäure.
Kurve 1: Papierchromatographiert; gemessen mit dem Radiopapierchromatographen (FH 407 der Fa. Frieseke)
Kurve 2: Dünnschichtchromatographiert; gemessen nach unserer Methode im FH 51.
Kurve 3: Dünnschichtchromatographiert; gemessen im FH 51 nach dreiwöchigem Stehen.

Die verwendete ^{14}C-Benzoesäure besaß eine spezifische Aktivität von 2,22 µC/mg. Die Aktivität von 4,4 γ (erster Meßpunkt) betrug also: $9{,}768 \cdot 10^{-3}$ µC = 21636,6 Ipm. Somit liegt die Zählausbeute bei Verwendung der Dünnschichtchromatographie bei 10,5% und bei Verwendung der Papierchromatographie bei 5,2%. Wie bereits erwähnt erhöhten sich die Zählausbeuten bei der Dünnschichtmethode nach längerem Stehen. Nach zwei Wochen stieg sie auf 13,8% (Kurve 3).

Gegenüber der Radiopapierchromatographie besteht also der oben ausgeführte vorteil der größeren Empfindlichkeit. Ein 2. Vorteil der Methode besteht darin, daß durch die stark absorpierende Wirkung des Kieselgels die aktiven Stoffe besser festgehalten werden und eine Verseuchung des Zählrohrs nur in weit geringerem Maße eintritt, als bei der papierchromatographischen Methode (der Nulleffekt lag trotz monatelanger Benützung des Zählrohrs ständig um 50 Ipm). Dafür ist allerdings der Arbeitsaufwand größer.

Gegenüber der Autoradiographie hat die Methode den Nachteil der geringeren Empfindlichkeit. Bei einer Zählausbeute von 10% beträgt bei uns die Nachweisgrenze (80 Ipm, d.h. ungefähr 1,5 - facher Nulleffekt) etwa $0{,}9 \cdot 10^{-4} \mu C/cm^2$, während in der Autoradiographie bei Verwendung hochempfindlicher Filme ohne Schutzschicht bis zu $10^{-5} \mu C/cm^2$ noch bestimmbar sind[13]. Ein Vorteil gegenüber der Autoradiographie besteht allerdings darin, daß dort derartig geringe Mengen erst nach etwa 10 Tagen erkannt werden können.

1.2.3. Doppelbindungen.

Ob ein Unterschied beim Bestrahlen von Doppelbindungen im Vergleich zu Einfachbindungen besteht, versuchten wir festzustellen, indem wir Cyclohexan und Cyclohexen mit THO erhitzten und die entstandenen Produkte chromatographierten. Wir erhielten folgende Chromatogramme (Abb. 10 und 11).

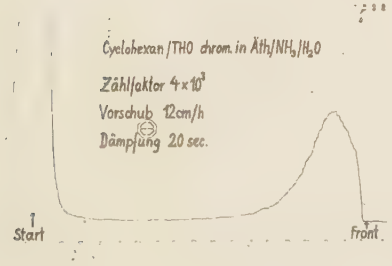


Abb. 10

Cyclohexan - THO, chromatographiert in $Äth/NH_3/H_2O$

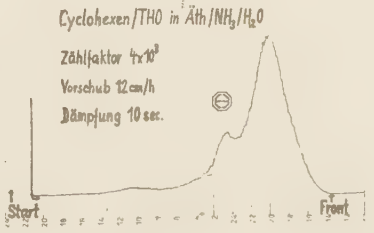


Abb. 11

Cyclohexen - THO, chromatographiert in $Äth/NH_3/H_2O$

Bei den an der Lösungsmittelgrenze liegenden großen Piks dürfte es sich um geringe Mengen T-markierten Cyclohexans bzw. Cyclohexens handeln. Im Chromatogramm 2 wurde an dieser Stelle $KMnO_4$ reduziert, im Gegensatz zu Chromatogramm 1. Außerdem treten beim Cyclohexen noch 2 weitere Piks bei den R_f-Werten 0,41 und 0,67 auf. Die Substanz mit R_f-Wert 0,41 zeigte schwach saure Wirkung gegen Bromphenolblau. Dem R_f-Wert nach handlete es sich um Adipinsäure. Auf Grund der erheblich größeren Konzen-

tration interessierte uns vor allem das 2. Zerfallsprodukt. In der Literatur fanden wir Arbeiten über Bestrahlung von Sterinen mit einer Doppelbindung in 5-6 Stellung, wobei bevorzugt die Doppelbindung gesprengt wurde, entweder unter Bildung des Glykols oder des Epoxyds[14].
Auch wir fanden bei ß-Sitosterin ein ähnliches Ergebnis. Wir ließen T-markiertes ß-Sitosterin längere Zeit liegen und trennten anschließend durch Zonenschmelzen die durch Selbstzersetzung entstandenen Verunreinigungen vom reinen Produkt ab. Von beiden Enden des Zonenschmelzlings nahmen wir dann ein IR-Spektrum auf (Abb. 10 und 11).

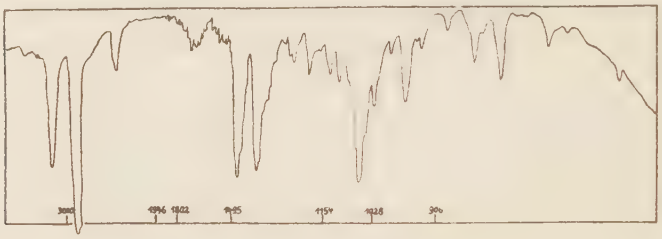


Abb. 10
IR-Spektrum vom Kopf des Zonenschmelzlings (reine Substanz).

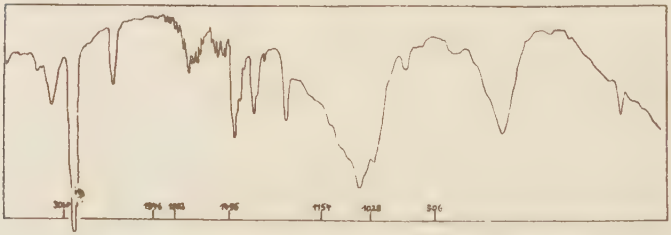
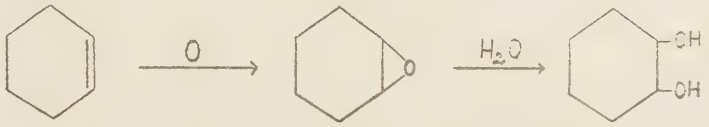


Abb. 11
IR-Spektrum vom Schwanz des Zonenschmelzlings (unreine Substanz).

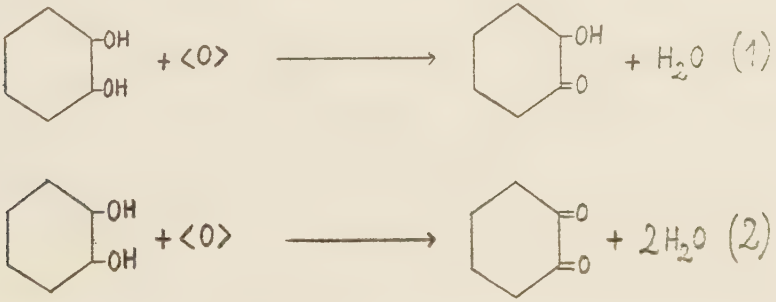
Es zeigte sich, daß beim unreinen Produkt neben einer ziemlichen Verschmierung der Banden im Gebiet der C - O und C - C Schwingungen (OH-Substitutionen bzw. Umlagerungen im Sito-

steringerüst) eine ausgeprägte Bande bei 1278mμ neu auftrat. Wahrscheinlich handelt es sich auch hier um ein Epoxyd, deren Schwingungen alle in diesem Bereich liegen (Äthylenoxyd: 1265mμ).

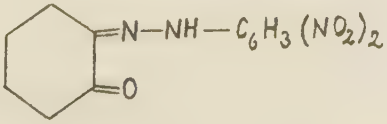
Folgende strahleninduzierte Reaktionen wären also beim Cyclohexen möglich:



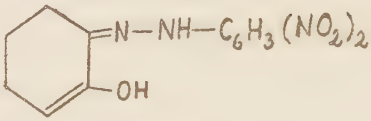
Da (im Gegensatz zur oben erwähnten Selbstzersetzung des Sitosterins) beim Cyclohexen in wäßrigem Medium gearbeitet wurde, dürfte, gegenüber der Glykolbildung, die Epoxydbildung weniger bedeutend sein. Die durch nachfolgende Oxydation des Glykols entstehenden Ketone (Gleichung 1 und 2) versuchten wir als 2,4-DNPs zu fassen.



Nach den üblichen Methoden bekamen wir beim Reinigen über eine Kieselgelsäule 3 Fraktionen. Das zum Vergleich hergestellte 2,4-DNP von Cyclohexandion ergab, neben geringen Verunreinigungen, 3, das von Cyclohexan-1on-2ol 2 Fraktionen. Die 2. und 3. Fraktion des Cyclohexandion-DNPs liefen dabei beim Chromatographieren auf Dünnschicht ungefähr gleich mit den beiden Fraktionen des Cyclohexan-1on-2ol DNPs. Die genaue Ursache für diese verschiedenen Fraktionen wurde nicht näher untersucht. Wahrscheinlich stellt die 1. Fraktion des Cyclohexandion DNPs das DNP der Diketoform dar:



während die 2 nächsten Fraktionen cis und trans Isomere DNPs der Enolform sind:



(Cyclohexandion liegt gewöhnlich bis zu 70% als Enol vor). Auf diese Weise lassen sich sehr leicht die ähnlichen R_f-Werte der entsprechenden Fraktionen des Cyclohexandions und Cyclohexan-1on-2ols erklären, wobei die DNPs des Cyclohexandions, die 1 Doppelbindung mehr enthalten, als die hydrophileren Verbindungen stets etwas weniger weit liefen. Beim Chromatographieren in Benzol/Chloroform 1:1 blieb beim Dion im Gegensatz zum 1on-2ol auch stets eine gewisse Menge am Start zurück. Wahrscheinlich handelte es sich hierbei um das entsprechende Osazon. Die 1. DNP-Fraktion unseres Cyclohexenzerfallsproduktes erwies sich als identisch mit der 1.Fraktion des Cyclohexandion DNPs (Monohydrazon der Ketoform). Die beiden DNPs liefen dabei auf Dünnschicht in Benzol, Benzol/$CHCl_3$ (1:1), und Benzol/Isoamyläther (1:1) gleich. Die Lage des Zerfallsprodukt DNPs konnte auf den Chromatogrammen außer der noch schwach sichtbaren gelbbraunen Färbung, auch durch seine Radioaktivität festgestellt werden (Abb. 12).

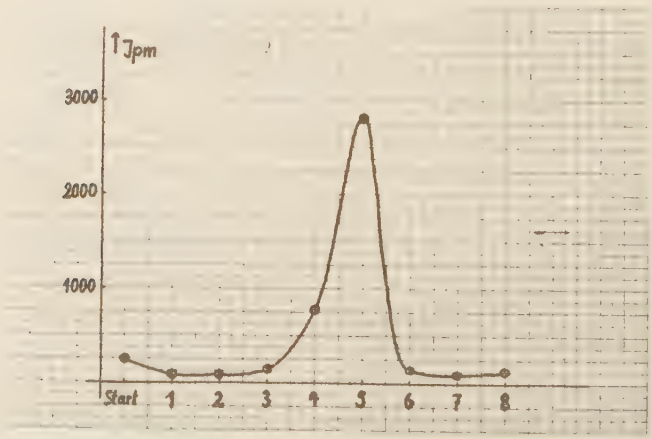


Abb. 12 Aktivitätsverteilung auf der Dünnschichtplatte nach dem Chromatographieren des Cyclohexenzerfallsprodukt-DNPs.

Die nach dem Eluieren aufgenommenen IR-Spektren waren ebenfalls

identisch. Eine Reihe anderer Aldehyde und Ketone, die ebenfalls geprüft wurden, unterschieden sich alle im R_f-Wert von unserem Zerfallsprodukt. Lediglich Glutardialdehyd lief praktisch gleich, zeigte aber ein völlig anderes IR-Spektrum, Die Papierchromatographie gelang weder hier noch bei den beiden nächsten Fraktionen. Sie wurde nach den üblichen Methoden der DNP-Chromatographie versucht (Papier imprägniert mit Formamid oder Dimethylformamid, Fließmittel Cyclohexan oder Cyclohexan-Benzolgemische). Die einzelnen Flecken waren jedoch immer derart weit auseinandergezogen, daß eine eindeutige Angabe eines R_f-Wertes nicht möglich war.

Die 2. Fraktion des Cyclohexenzerfallsprodukt-DNPs lief in folgenden Systemen auf der Dünnschicht gleich mit dem DNP des Cyclohexan-1on-2ols:

Benzol/Chloroform 1:1
Benzol/Isoamyläther 1:1
Benzol/Chloroform/Essigester 6:3:1
Benzol/Chloroform/Essigester 3:3:1

Die 3. Fraktion konnte überhaupt nur in stark ziehenden Systemen chromatographiert werden. Sie lief mit dem Cyclohexandion-DNP gleich in:

Benzol/Isoamyläther 1:1
Benzol/Chloroform/Essigester 6:3:1
Benzol/Chloroform/Essigester 3:3:1

Die radioaktive Verteilung eines Chromatogramms zeigt Abb. 13.

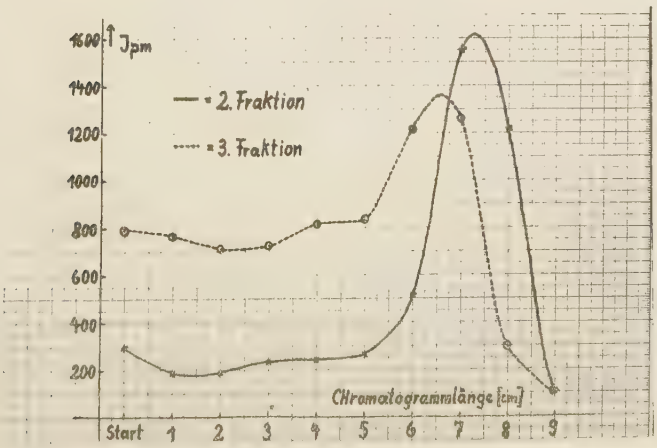


Abb. 13 Aktivitätsverteilung der Dünnschichtchromatogramme der 2. und 3. Fraktion des Cyclohexenzerfallsprodukt-DNPs.

Die Aktivitätsbestimmung war bei der 3. Fraktion bei Benutzung von Benzol - Isoamyläther als Lösungsmittel bereits nicht mehr möglich, da die Substanz zu wenig vom Start entfernt war und der Aktivitätspik deshalb in der hohen Startaktivität unterging. Die der 2. Fraktion des 1on-2ol-DNPs bzw. der 3. Fraktion des Dion-DNPs entsprechenden DNPs der Zerfallsprodukte waren nur in Spuren vorhanden. In Bild 13 sind sie hinter den Hauptpiks schwach zu erkennen.
Es gelang uns leider nicht zur endgültigen Identifizierung IR-Spektren herzustellen, da die Substanzen zu hydrophil waren, um mit Äther aus dem Kieselgel herausgelöst werden zu können. Andere Eluierungsmittel (z.B. Essigester) waren nicht zu gebrauchen, da sie entweder selbst beim Abdampfen einen IR-aktiven, nicht flüchtigen Rückstand hinterließen, oder andere IR-aktive Substanzen aus dem Kieselgel herauslösten.

Beim Cyclohexadien wurde analog verfahren wie beim Cyclohexen, jedoch weder ein Pik auf dem Papierchromatogramm, noch ein DNP erhalten. Das Reaktionsgemisch färbte sich sehr bald gelb bis braun. Wenn auch hier Hydroxylierungen eintreten, werden wahrscheinlich viele z.T. sehr kompliziert gebaute Verbindungen entstehen (das Oxydationsendprodukt, das Cyclohexantetron z.B. ist isomer dem 2,5-Dioxychinon, sodaß man eventuell in die sehr komplizierte Reihe der Oxychinone gelangt). Außerdem entstehen sicher, wie auch beim Cyclohexen, strahlenkatalysierte Polymerisationsvorgänge, die die Gesamtreaktion noch weiter komplizieren. Nachdem wir durch Chromatographie fanden, daß keine oxydative Sprengung der Doppelbindung unter Bildung von Malonsäure bzw. durch Dekarboxylieren derselben, von Essigsäure auftrat, wurden die gelben Produkte aus obigen Gründen nicht weiter untersucht.

1.2.4. Aminosäuren.

Um über die Stabilität der C-N Bindung Aussagen machen zu können, überprüften wir als nächstes Aminosäuren. Theoretisch ergeben sich 3 prinzipielle Möglichkeiten der Zerstörung von Aminosäure[15].

1. Dekarboxylierung: $R\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}CH_2\text{-}NH_2 + CO_2$

2. Desaminierung: $R\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}\dot{C}H\text{-}COOH + \cdot NH_2$

3. Abspaltung des semilabilen H-Atoms in α-Stellung zur Carboxylgruppe:

$$R\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}\dot{C}(NH_2)\text{-}COOH + \cdot H$$

Im Falle des Glycins wären also folgende Reaktionsprodukte zu erwarten:

1. Durch Dekarboxylierung: CH_3NH_2

2. Aus $\cdot CH_2\text{-}COOH$:

$\cdot CH_2\text{-}COOH + \cdot H \longrightarrow CH_3\text{-}COOH$

$\cdot CH_2\text{-}COOH + \cdot OH \longrightarrow CH_2OH\text{-}COOH$

$2 \cdot CH_2\text{-}COOH \longrightarrow HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH$

3. Aus $\cdot CH(NH_2)\text{-}COOH$:

$\cdot CH(NH_2)\text{-}COOH + \cdot H \longrightarrow CH_2(NH_2)\text{-}COOH$

$\cdot CH(NH_2)\text{-}COOH + \cdot OH \longrightarrow [HO\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH] \longrightarrow CHO\text{-}COOH + NH_3$

$\cdot CH(NH_2)\text{-}COOH + \cdot CH_2\text{-}COOH \longrightarrow HOOC\text{-}CH(NH_2)\text{-}CH_2\text{-}COOH$

$2 \cdot CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow HOOC\text{-}CH_2(NH_2)\text{-}CH_2(NH_2)\text{-}COOH$

4. Als weitere Reaktionsprodukte kommen eventuell noch in Frage:

Aus $2 \cdot NH_2$-Radikalen: Hydrazin,

aus $\cdot NH_2 + \cdot OH$: Hydroxylamin

und vor allem natürlich aus $\cdot NH_2 + \cdot H$: Ammoniak.

Die Wahrscheinlichkeit, daß 2 Glycinbruchstücke miteinander reagierten, war, entsprechend dem Molverhältnis der angewandten Glycin- und THO-Mengen, 10-mal geringer, als diejenige, daß ein Glycinbruchstück mit einem Bruchstück des Wassersd.h. mit einem H oder OH-Radikal reagierte. Wir hatten also als Hauptprodukte folgende Verbindungen zu erwarten:
Nach Reaktion 1: CH_3NH_2
nach Reaktion 2: $CH_3\text{-}COOH$, $CH_2OH\text{-}COOH$
nach Reaktion 3: CHO-COOH neben markiertem Glycin
nach Reaktion 4: NH_3 und eventuell NH_2OH
Außerdem konnte natürlich aus Glykol- und Glyoxylsäure durch Oxydation Oxalsäure entstehen, die jedoch für uns wertlos war, da sie keine stabilen Wasserstoffatome besitzt und deshalb nicht

markierbar ist.
Nach dem Chromatographieren in Butanol/Eisessig/H_2O 4:1:1 erhielten wir folgendes Radiochromatogramm (Abb. 14).

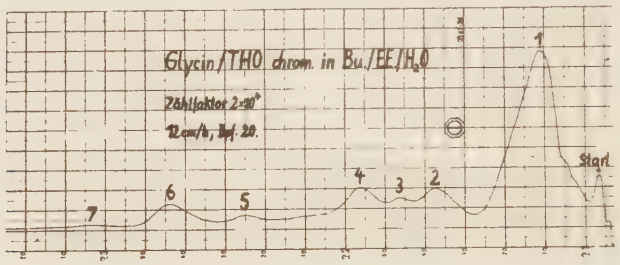


Abb. 14
Radiopapierchromatogramm des Glycin/THO - Reaktionsproduktes. (chromatographiert in Bu/EE/H_2O 4:1:1 - absteigend -)

Ninhydrinpositiv reagierten folgende Substanzen:
4 (R_f-Wert 0,31), 2 (0,21), 1 (0,09), sowie einige nicht aufgetrennte Verbindungen kurz oberhalb des Starts.
Bromphenolblau wurde gelb gefärbt (saure Substanzen) von:
6 (R_f-Wert 0,58), 3 (0,26), 2 (0,21), 1 (0,09), sowie kurz oberhalb des Starts. Blaufärbung (alkalische Komponenten) erhielten wir bei 4 (0,315).
Der Hauptpik 1 stellte markiertes Glycin dar. Die R_f-Werte stimmten in folgenden Lösungsmitteln überein (Tabelle 4).

Lösungsmittelsystem	Verbindung 1	Glycin
Bu/EE/H_2O 4:1:1	0,09	0,10
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,25	0,25
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4:4:1:1	0,13	0,13

Tab. 4
R_f-Werte der Verbindung 1 und einer Blindprobe von Glycin in verschiedenen Lösungsmittelsystemen.

Von den Zerfallskomponenten waren 2, 4 und 6 am intensitätsstärksten. Zerfallsprodukt 2 wurde als Alanin identifiziert. Die gefundenen R_f-Werte zeigt Tabelle 5.

Lösungsmittelsystem	Verbindung 2	Alanin	Glycin
Bu/EE/H_2O 4:1:1	0,21	0,22	
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,14 + 0,26 + 0,37	0,375	0,25
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4/4/1/1	0,04 + 0,12 + 0,25	0,25	0,12

Tab. 5
R_f-Werte der Verbindung 2, sowie Blindproben von Alanin und Glycin in verschiedenen Lösungsmitteln.

Wie schon erwähnt reagierte die Substanz sauer und ninhydrinpositiv. Das mitauftretende Glycin sowie die in geringerer Menge vorhandene 3. Verbindung wurden wahrscheinlich bei der Aufarbeitung des ursprünglichen Chromatogramms miteluiert (Abb. 15).

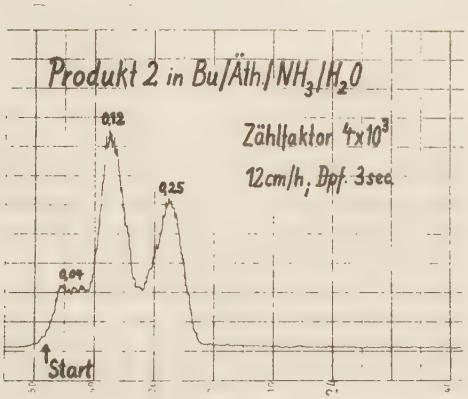


Abb. 15
Radiopapierchromatogramm der Verbindung 2 (chromatographiert in Bu/Äth/NH_3/H_2O 4/4/1/1)
R_f-Wert 0,25 = Alanin
" 0,12 = Glycin

Zerfallsprodukt 4 reagierte ninhydrinpositiv und ergab mit Bromphenolblau eine schwache Blaufärbung, sonst ein typisches Kennzeichen für Amine. Der R_f-Wert stimmte genau mit demjenigen von NH_4-azetat überein, doch konnten in anderen Systemen keine Vergleichswerte hergestellt werden, da das NH_4-ion, wie später noch gezeigt werden wird, sein Tritium sehr leicht austauscht und beim Eluieren daher praktisch inaktiv wurde. Die Möglichkeit anderer Amine konnte durch vergleichende Chromatographie in obigem System aber einwandfrei ausgeschlossen werden. Bei absteigendem Chromatographieren in Bu/EE/H_2O 4:1:1 konnten für die einzelnen Verbindungen folgende Laufstrecken ermittelt werden.

Verb. 4	NH_3	CH_3NH_2	$C_2H_5NH_2$	$H_2N-CH_2-CH_2-NH_2$
10,9 cm	10,9cm	13,3cm	14 cm	9,2cm

Tab. 6
Laufstrecken verschiedener Amine, sowie der unbekannten Verb. 4 bei absteigender Chromatographie in Bu/EE/H_2O 4:1:1

Zerfallsprodukt 6 wurde als Glykolsäure identifiziert. Gefundene R_f-Werte siehe Tabelle 7.

Lösungsmittelsystem	Verb. 6	Glykolsäure	Glyoxylsäure
Bu/EE/H_2O 4:1:1	0,58	0,57	
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,31 + 0,39	0,39	0,31
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4/4/1/1	0,14 + 0,24	0,25	0,12

Tab. 7
R_f-Werte von Glykolsäure, Glyoxylsäure, sowie des Zerfallsproduktes 6 in verschiedenen Lösungsmittelsystemen.

Wahrscheinlich wurde also während des Eluierens (Dauer etwa 2 bis 3 Tage) etwas Glykolsäure zu Glyoxylsäure oxydiert, jedoch nur in unbedeutendem Umfang (vgl. Abb. 16)

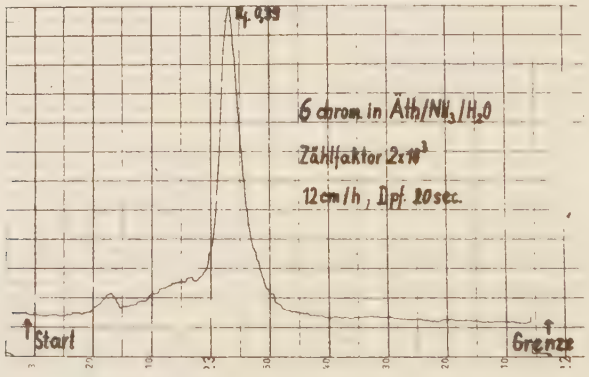


Abb. 16
Zerfallsprodukt 6 nach dem Eluieren erneut chromatographiert in Äth/NH_3/H_2O

Die intensitätsschwächeren Zerfallsprodukte drei, fünf und vor allem das nur in Spuren aufgetretene Produkt sieben konnten nicht einwandfrei identifiziert werden, da entweder ihre Konzentrationen zu gering waren, oder sie das gebundene Tritium so schnell rückaustauschten, daß nach dem Eluieren beim Chromatographieren in anderen Lösungsmittelsystemen keine aktiven Piks

mehr gefunden wurden. 3 und 5 konnten auf dem ursprünglichen Chromatogramm noch schwach als Säuren erkannt werden. Nach den R_f-Werten in Bu/EE/H_2O handelte es sich bei 3 um Glyoxylsäure, bei 5 um Äpfelsäure und bei 7 um Bernsteinsäure (vgl. Tab. 8).

Zerfallsprodukt 3	Glyoxylsäure
0,26	0,25
Zerfallsprodukt 5	Äpfelsäure
0,48	0,50
Zerfallsprodukt 7	Bernsteinsäure
0,69	0,69

Tab. 8
R_f-Werte von 3 Zerfallsprodukten und der zugehörigen Vergleichssubstanzen in Bu/EE/H_2O 4:1:1

Die Substanzen, die sich knapp oberhalb des Startpunktes befanden, wurden durch absteigendes Chromatographieren nach 3 Tagen befriedigend getrennt. Die am weitesten gelaufene Verbindung lief gleich mit Asparaginsäure und lieferte auch mit Ninhydrin die gleiche dunkelviolette Farbreaktion. Die 2. Substanz ergab mit Ninhydrin die hellere und etwas verwaschene Aminfärbung. Die Laufstrecke stimmte genau mit der des Hydrazinazetats überein, jedoch traten dieselben Schwierigkeiten wie beim Ammoniak auf: beim Eluieren tauschte die Verbindung ihr Tritium sehr schnell wieder aus und es wurden in anderen Systemen keine R_f-Werte gefunden. Die 3. Verbindung ließ nach der Reaktion mit Ninhydrin wieder auf eine Aminosäure schließen. Nach der Laufstrecke käme eventuell die Diaminobernsteinsäure in Frage, die uns zu vergleichenden R_f-Werten jedoch nicht zur Verfügung stand. Infolge der relativ geringen Intensität der letzten 3 Verbindungen waren sie für uns auch im Gegensatz zu den Verbindungen 2, 4 und 6 weniger wichtig.
Die theoretisch noch zu erwartende Essigsäure war in obigem, essigsauren System natürlich nicht zu finden. Wir chromatographierten eine neue Probe Glycin/THO in einem ammoniakalischen System und fanden auch beim R_f-Wert der Essigsäure einen Pik, der in anderen Systemen ebenfalls mit Essigsäure übereinstimmte. (vgl. Tabelle 9).

Lösungsmittelsystem	Zerfallsprodukt	Essigsäure
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,64	0,64
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4/4/1/1	0,45	0,44

Tab. 9
R_f-Werte des Zerfallsproduktes und der Essigsäure in 2 verschiedenen, ammoniakalischen Lösungsmittelsystemen.

Zusammenfassend können wir sagen, daß der Grad der radioaktiven Zersetzung des Glycins höher ist, als beim Durchschnitt der bisher betrachteten Substanzen. Das Dekarboxylieren spielt keine Rolle, sondern die Hauptreaktion greift an der C - N Bindung unter Abspaltung eines NH_2-Radikals an. Dies zeigen die 3 intensitätsstärksten Folgeprodukte: NH_3, Glykolsäure und Essigsäure. Die ebenfalls relativ große Menge an Alanin konnten wir nicht erklären. Die Intensität der Folgeprodukte aus 2 Glycinbruchstücken (Bernsteinsäure, Asparaginsäure und eventuell Diaminobernsteinsäure, Äpfelsäure, sowie N_2H_4) war, wie theoretisch zu erwarten war, relativ gering und deshalb weniger bedeutend.

Alanin.
Das Radiochromatogramm der in Bu/EE/H_2O chromatographierten Alanin/THO-Mischung (Abb. 17) ergab, neben markiertem Alanin, noch 5 Zerfallsprodukte.

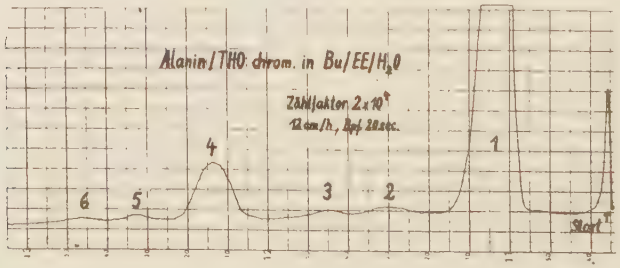


Abb. 17
Radiopapierchromatogramm des Alanin/THO-Reaktionsproduktes. Chromatographiert in Bu/EE/H_2O 4:1:1 - absteigend -).

Die Zerfallsprodukte 2 und 3 reagierten mit Ninhydrin schwach positiv, 4,5, und6 erwiesen sich als Säuren. Das markierte

Alanin konnte einwandfrei durch den R_f-Wert und die Reaktion mit Ninhydrin identifiziert werden.
Das Hauptzerfallsprodukt 4 erwies sich als Milchsäure. Folgende R_f-Werte wurden gefunden (Tabelle 10).

Lösungsmittelsystem	Verb. 4	Milchsäure
Bu/EE/H_2O 4:1:1	0,63	0,62
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,555	0,55
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4/4/1/1	0,42	0,42

Tab. 10
R_f-Werte des Zerfallsproduktes 4 und der Milchsäure in verschiedenen Lösungsmittelsystemen.

Die Verbindungen 2 und 3 liefen völlig gleich mit Ammonazetat und Äthylammoniumazetat. Beide ergaben auch mit Ninhydrin eine schwache Färbung. Im Gegensatz zum Glycin trat also beim Alanin, neben der C - N Spaltung in geringem Umfang eine Dekarboxylierung ein. Infolge der geringen Intensitäten und der oben bereits erwähnten Schwierigkeit des leichten T-Rückaustausches bei NH_3 und Aminen, untersuchten wir diese Verbindungen nicht weiter.
Auch die Produkte 5 und 6 waren infolge ihrer geringen Konzentration, in der sie entstanden, für uns weniger interessant. Beide Verbindungen waren Säuren. Dem R_f-Wert nach handelte es sich um Brenztraubensäure und Propionsäure. Gefundene R_f-Werte in Bu/EE/H_2O vgl. Tabelle 11.

Zerfallsprodukt 2	Ammoniak
0,33	0,33
Zerfallsprodukt 3	Äthylamin
0,42	0,415
Zerfallsprodukt 5	Brenztraubensäure
0,73	0,73
Zerfallsprodukt 6	Propionsäure
0,82	0,84

Tab. 11
R_f-Werte von 4 Zerfallsprodukten mit den zugehörigen Vergleichssubstanzen in Bu/EE/H_2O 4:1:1

Da durch das Chromatographieren im Sauren Medium wahrscheinlich ein großer Teil der leichtflüchtigen Propionsäure nicht erfaßt wurde, wurde eine neue Probe in einem ammoniakalischen System chromatographiert. Es ergab sich, daß die Propionsäure intensitätsmäßig das Hauptzerfallsprodukt darstellte. Abbildung 18 zeigt das Radiochromatogramm einer Alanin-THO-Mischung, die längere Zeit (30 Tage) bei Raumtemperatur gehalten wurde. Es fand unter diesen Bedingungen keine Markierung des Alanins statt. Alanin, nachgewiesen mit Ninhydrin, lag zwischen Verbindung 2 und 3.

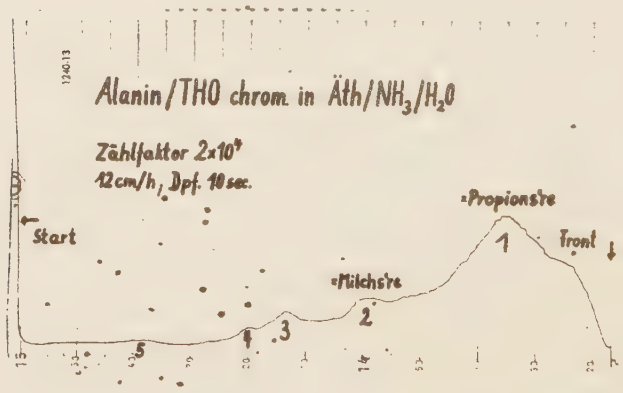


Abb. 18
Radiochromatogramm von Alanin/THO, chromatographiert in Äth/NH_3/H_2O
80 4 16

Das Hauptzerfallsprodukt war Propionsäure (1), wie folgende R_f-Werte zeigten (Tabelle 12).

Lösungsmittelsystem	Zerfallsprodukt 1	Propionsäure
Äth/NH_3/H_2O 80:4:16	0,75	0,74
Bu/Äth/NH_3/H_2O 4:4:1:1	0,52	0,52
Bu/1,5n NH_3	0,18	0,18

Tab. 12
R_f-Werte des Produktes 1 und der Propionsäure in verschiedenen ammoniakalischen Lösungsmittelsystemen.

Die Substanz reagierte außerdem gegen Bromphenolblau sauer. Die Verbindung 2 war die bereits gefundene Milchsäure, 5 Brenztraubensäure. 3 und 4 waren unbekannte Säuren, die wahrscheinlich, analog wie beim Glycin, durch Reaktion der Alaninbruch-

stücke untereinander entstanden und hier zu komplizierteren, höheren Oxy-, Amino- und einfachen Dicarbonsäuren führen. Das Intensitätsverhältnis von Propionsäure zu Milchsäure ist jedoch im obigen Chromatogramm aus 2 Gründen zu hoch.

1. Es ist zu berücksichtigen, daß die Propionsäure bei ihrer Bildung aus Alanin "direkt" markiert wird:

$$CH_3\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow CH_3\text{-}\dot{C}H\text{-}COOH \xrightarrow{T} CH_3\text{-}CHT\text{-}COOH$$

Die molare Konzentration des Tritiums in der entstehenden Propionsäure ist also gleich der Tritiumkonzentration des verwendeten THO. Außerdem erfolgt natürlich eine weitere Markierung durch Austausch des 2. semilabilen H-Atoms in α-Stellung zur Carboxylgruppe. Im Gegensatz dazu sitzt bei der entstehenden Milchsäure das T-Atom, nur sehr labil gebunden, am Sauerstoff, wo es durch die leichte Rückaustauschbarkeit für den Nachweis wertlos ist. Die gesamte gemessene Aktivität der Milchsäure rührt also vom Tritium in α-Stellung zur Carboxylgruppe her, das durch Austauschreaktionen ins Molekül gelangte. Die Aktivität der entstandenen Milchsäure wird deshalb trotz eventuell gleicher Konzentration bedeutend geringer sein als diejenige der entstandenen Propionsäure.

2. Wir machten die Beobachtung, daß die eluierte Milchsäure sich unter dem Einfluß der eigenen ß-Strahlung in Propionsäure und wahrscheinlich auch Brenztraubensäure umwandelte, falls wir das Eluat längere Zeit bei Zimmertemperatur stehen ließen (siehe Abb. 19).

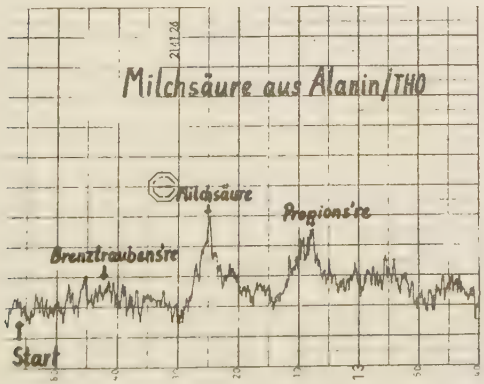


Abb. 19
Eluierte T-markierte Milchsäure, chromatographiert in Bu/Äth/NH_3/H_2O
4 4 1 1

Die Brenztraubensäure konnte auf dem Chromatogramm auch mit Bromphenolblau nachgewiesen werden. Ihre verschwindend geringe Aktivität rührt natürlich daher, daß das Tritium am C_2-Atom, das zur Aktivität der Milchsäure führte, bei der Oxydation verschwindet und nur die geringe Restaktivität der CH_3-Gruppe übrigbleibt. Durch das Liegen der THO-Alanin-Mischung dürfte also auch ein Teil der primär entstandenen Milchsäure in Propionsäure übergegangen sein und eine endgültige Entscheidung über das Konzentrationsverhältnis der beiden Zerfallsprodukte kann auf diese Weise nicht getroffen werden.
Zusammenfassend können wir beim Alanin sagen, daß die Hauptreaktion, analog zum Zerfall des Glycins, in einer Spaltung der C-N-Bindung besteht, wobei, neben NH_3, hauptsächlich Milchsäure und Propionsäure entstehen. Wie beim Glycin entsteht auch hier in geringerer Konzentration das Oxydationsprodukt der Milchsäure, die Brenztraubensäure, sowie durch Reaktion der einzelnen Alaninbruchstücke untereinander, andere saure Komponenten. Im Gegensatz zum Glycin konnte beim Alanin jedoch auch, das durch decarboxylieren der Aminosäure entstandene, Amin in geringer Menge nachgewiesen werden.

Andere Aminoverbindungen.

Valin zerfiel analog Glycin und Alanin. Es wurde, neben markiertem Valin, NH_3 und eine höhere Oxysäure gefunden, die jedoch infolge fehlender Vergleichssubstanz nicht näher untersucht wurde.
Phenylalanin ergab die typische Gelbfärbung, die beim Bestrahlen von Aromaten immer auftrat. Die entstandenen Verbindungen blieben entweder am Start sitzen oder verschmierten über das ganze Chromatogramm, sodaß keine eindeutigen R_f-Werte ermittelt werden konnten.
ß-Alanin zerfiel nur zu einem sehr geringen Bruchteil. Die einzige Verbindung, die entstand, wurde an Hand des R_f-Wertes und der Ninhydrinreaktion als Äthylamin identifiziert.

1.2.5. Verwendungsmöglichkeit der Methode zur Analyse.

1.2.5.1. Theoretische Gesichtspunkte.

Der Hauptzweck, aus dem wir diese gesamten Untersuchungen vornahmen, war eine Verwendbarkeit als mikroanalytische Methode

Es erwies sich oft, daß die entstandenen Zersetzungsprodukte einer bestrahlten Substanz eine erheblich höhere spezifische Aktivität besitzen, als die Muttersubstanzen. Der Grund dafür ist sehr einfach. Wie beim Entstehen der Propionsäure aus Alanin bereits gezeigt, wird das entstehende Radikal CH_3-$\dot{C}$H-COOH durch Einfangen eines ·H bzw. ·T Radikals "direkt" markiert, besitzt also eine spezifische Aktivität, die durch gewöhnliche Austauschmarkierung nicht angenähert erreicht werden kann. Theoretisch würde ein derartig direkt markiertes Molekül, im von uns verwendeten THO mit einer Aktivität von 5C/ml, also eine Aktivität von 90C/mol besitzen. Die noch erfaßbaren Mengen (100 Ipm = ungefähr doppelter Nulleffekt) betragen also: $\frac{10 \cdot 100}{90 \cdot 3{,}7 \cdot 10^{10} \cdot 60}$ mol = $0{,}5 \cdot 10^{-5}$ mol. Für den Fall der Propionsäure (Molekulargewicht 74) ergeben sich: $0{,}5 \cdot 10^{-5} \cdot 74 = 3{,}7 \cdot 10^{-4}$ g. Da jedoch letzten Endes nicht die Nachweisgrenze des entstandenen Zerfallsproduktes, sondern diejenige der ursprünglichen Verbindung interessiert, ist es natürlich nötig, den ungefähren Grad der Zersetzung zu kennen. In der Strahlenchemie wird dieser gewöhnlich mittels des G-Wertes angegeben. Der G-Wert besagt dabei, wieviel Moleküle, Radikale oder Ionen bei der Absorption von 100 eV der jeweiligen Strahlung gebildet oder zerstört werden. Gewöhnlich schwanken die erhaltenen Werte zwischen 0 und 4. Maximale G-Werte, die bei der Bestrahlung von Äthylenverbindungen mit α-Strahlen gefunden wurden, betrugen jedoch fast 400[16]. In solchen Fällen wird meist irgend eine eintretende Kettenreaktion für die hohen Werte verantwortlich gemacht. Die G-Werte sind in all diesen Versuchen mit α oder γ-Strahlen natürlich leicht zu bestimmen, da man sowohl die absorpierte Energie genau kennt und auch die Zerfallsprodukte in derart großen Mengen entstehen, daß sie bequem quantitativ bestimmt werden können. Bei unseren Versuchen kann jedoch die Energie nur näherungsweise angegeben werden, da bestimmt ein erheblicher Teil der ß-Teilchen aus der Lösung an den Rand des Gefäßes entkommt und von der Glaswand absorpiert wird. Unter der Annahme, daß alle ß-Strahlen ihre Energie an das Reaktionsgemisch abgeben, wäre die in 4 Tagen maximale absorpierte Energie, bei 10 mg THO mit einer spezifischen Aktivität von 5C/ml und einer durchschnittlichen ß-Energie von 5,65 keV:

$E = 5650 \cdot 3{,}7 \cdot 10^{8} \cdot 4 \cdot 24 \cdot 60 \cdot 60$ eV = $7{,}23 \cdot 10^{17}$ eV.

Bei einem G-Wert von 4 entstehen also $2{,}992 \cdot 10^{16}$ Moleküle, das ergibt bei einem Molekulargewicht der entstehenden Verbindung von 74: $\frac{3\ 10^{16}\ 74}{6\ 10^{17}} = 3{,}7\gamma$.

Die exakte experimentelle Bestimmung von G-Werten war uns nicht möglich, da wir die spezifischen Aktivitäten der entstandenen Verbindungen nicht kannten. Möglich war dies lediglich im Falle der ^{14}C-Benzoesäure.
Die Aktivität der verwandten Benzoesäure betrug $270\mu C/mmol = 6 \cdot 10^8$ Ipm/mmol. Bei einer Zählausbeute von 65,1% wurden nach 120 Tagen für das entstandene $^{14}CO_2$ 2567 Ipm gemessen. Das ergibt eine absolute Aktivität von 3940 Ipm und eine CO_2-Menge von $\frac{3940}{6 \cdot 10^8} = 6{,}57 \cdot 10^{-6}$ mmol ($= 3{,}942 \cdot 10^{15}$ Moleküle).
Die Gesamtaktivität der verwendeten 20,21 mg ^{14}C-Benzoesäure (spez. Aktivität $2{,}213\mu C/mg$) betrug $20{,}21 \cdot 2{,}213 = 44{,}6\mu C = 9{,}89 \cdot 10^7$ Ipm. Die durchschnittliche Energie der ß-Teilchen betrug 50 keV. Das ergibt eine gesamte "absorpierte" Energie von: $5 \cdot 10^4 \cdot 9{,}89 \cdot 10^7 = 4{,}945 \cdot 10^{12}$ eV/min. Nach 120 Tagen also wurden $8{,}55 \cdot 10^{17}$ eV "absorpiert". Daraus errechnet sich nun ein G-Wert von: $\frac{3{,}942 \cdot 10^{15} \cdot 100}{8{,}55 \cdot 10^{17}} = 0{,}47$. Die in der Literatur bei Verwendung von α-Strahlen angegebenen Werte lagen bei 2. Wenn man auch eventuelle Verluste bei der Aufarbeitung des entstandenen $^{14}CO_2$ berücksichtigt, so bleibt doch die Tatsache, daß 1/2 bis 3/4 der ß-Energie nicht von der bestrahlten Substanz, sondern von den Glaswänden und der umgebenden Luft absorpiert wurden. In obigem Beispiel lag die bestrahlte Benzoesäure allerdings in Form eines sehr lockeren Kristallpulvers vor. Die dadurch hervorgerufene Verfälschung der Ergebnisse durch die Absorption der vorhandenen Lufträume, fällt beim Bestrahlen in THO weg, sodaß wir dort eine bessere Übereinstimmung mit den in der Literatur angegebenen Werten finden dürften.
Bei allen folgenden Überlegungen werden wir aber trotzdem vorsichtshalber die in der Literatur angegebenen G-Werte um den Faktor 2 verkleinern. Selbst bei G-Werten von 1 - 2 entsteht dann jedoch das Zerfallsprodukt, bei den in unseren Versuchen herrschenden Bedingungen, immer noch in der Größenordnung von 1γ, also in der $0{,}27 \cdot 10^4$ -fachen Menge, die zum Nachweis erforderlich wäre. Unsere Bedingungen mit der sehr weichen ß-

Strahlung des Tritiums müßten also theoretisch ausreichen, um noch $10^{-4}\gamma$ einer Substanz anhand der entstehenden, direktmarkierten Zerfallsprodukte nachweisen zu können.
Unsere praktischen Versuche in dieser Richtung hatten leider nicht den gewünschten Erfolg. Die Hauptgründe waren dabei folgende. Die in Frage kommenden Verbindungen mußten Teilbruchstücke der Ausgangssubstanz sein, die nicht durch andere Radikale, sondern durch ein Tritiumradikal abgesättigt wurden. Die Molekülgrößen der Zerfallsbruchstücke, die hierfür in Frage kamen, waren daher notgedrungen kleiner als diejenigen der Ausgangsmoleküle. Es waren gewöhnlich leicht flüchtige oder gasförmige Substanzen. Das zeigt eine zusammenfassende Tabelle der von uns geprüften Verbindungen. Nach obigen Gesichtspunkten kommen nur die unterstrichenen Substanzen in Frage.

$HCOOH \longrightarrow \underline{H_2} + CO_2$

$CH_3COOH \longrightarrow \underline{CH_4} + CO_2$

$C_6H_5CHOHCOOH \longrightarrow CO_2 + \underline{C_6H_5CH_2OH} \longrightarrow C_6H_5CHO \longrightarrow C_6H_5COOH$

$HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH \longrightarrow CO_2 + \underline{CH_3\text{-}CH_2\text{-}COOH}$

ß-Resorcylsäure $\longrightarrow CO_2 +$ Resorcin

$C_6H_5COOH \longrightarrow CO_2 + \underline{C_6H_6}$

$C_5H_{11}\text{-}CH_2OH \longrightarrow C_5H_{11}\text{-}CHO$

Cyclohexanol $\longrightarrow$ Cyclohexanon

Cyclohexen $\longrightarrow$ Cyclohexandiol usw.

$H_2N\text{-}CH_2\text{-}COOH \longrightarrow \underline{CH_3\text{-}COOH} + \underline{NH_3} + CH_2OH\text{-}COOH$ usw.

$CH_3\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH \longrightarrow \underline{CH_3\text{-}CH_2\text{-}COOH} + \underline{NH_3} + CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH$

Die Oxydationsprodukte der Alkohole und des Cyclohexens, sowie die aus den Aminosäuren entstandenen Oxysäuren waren von vornherein wertlos, da sie das Tritium nur sehr locker am Sauerstoff gebunden haben und beim Chromatographieren sofort Rückaustausch eintrat. Genauso wertlos waren für uns natürlich Wasserstoff, Methan und Benzol aus Ameisensäure, Essigsäure und Benzoesäure.
1.2.5.2. Essigsäure und Propionsäure aus Glycin und Alanin.
Bei den aus Aminosäuren entstandenen Essigsäure und Propionsäure traten die oben erwähnten Schwierigkeiten der leichten

Flüchtigkeit auf. Bei den gezeigten Chromatogrammen in ammoniakalischen System (chromatographiert wurden etwa 0,5 mg Glycin bzw. Alanin) hätte die Zählrohrempfindlichkeit erheblich gesteigert werden können, sodaß wir bis zu einer Nachweisgrenze von ungefähr 0,5γ der Aminosäure gekommen wären, doch trat dabei eine unüberwindliche Schwierigkeit im zu hohen Background auf, der immer in dieser Intensität vorhanden war, wenn das Reaktionsgemisch THO-Substanz direkt chromatographiert wurde. Abhilfe versuchten wir durch sehr langes Beföhnen bzw. durch Erhitzen auf 100° C im Trockenschrank zu schaffen. Es zeigte sich jedoch, daß die gesuchten Säuren dann ebenfalls verschwanden. Selbst wenn es uns jedoch gelungen wäre, diese Schwierigkeit zu beseitigen, hätte sich die erreichte Nachweisgrenze von 0,5γ Alanin noch um 4 Zehnerpotenzen von der theoretisch geforderten unterschieden. Wir halten es für unmöglich, daß ein derartig hoher Prozentsatz an Propionsäure durch Verdampfen verlorenging. Es scheint in diesen Verbindungen mit nur semilabil gebundenen Tritium (erkennbar durch einfache Austauschmarkierung bei höherer Temperatur) im Molekül also trotz der anfänglich gleichen spezifischen Aktivität der markierten Verbindung und des Tritiumoxyds, beider hohen Reaktionstemperatur tatsächlich ein beträchtlicher Rückaustausch stattzufinden. Das "T-Gleichgewicht" zwischen einer markierten Verbindung dieser Art und dem markierenden Tritiumoxyd scheint also nicht zu 50% oder gar mehr auf Seiten der markierten Verbindung zu liegen, sondern im beträchtlichen Umfang auf der Seite des Tritiumoxyds. Ähnliche Ergebnisse bei der ß-Resorcylsäure bestätigten dies.

1.2.5.3. NH_3 aus Aminoverbindungen.

Als wir versuchten, das markierte Ammoniak nachzuweisen, fanden wir, wie schon erwähnt, daß auch diese Verbindung durch ihren schnellen Rückaustausch des gebundenen Tritiums wertlos war. Um diese Austauschfähigkeit des NH_3-Moleküls nachzuweisen, erhitzten wir NH_4Cl und Tritiumoxyd (0,1μC/ml) 3 Tage auf 150° C. Das Ammoniumchlorid wurde dann isoliert, getrocknet und die Aktivität im Methandurchflußzähler gemessen. Wir fanden 378 Ipm/mmol. Bei einer Zählausbeute von etwa 10% ergab sich eine absolute Impulsrate von 3780 Ipm/mmol. Das verwendete THO besaß, bei einer Aktivität von 0,1μC/ml eine absolute Impulsrate von 3996 Ipm/mmol. Dies beweist, daß Ammoniumchlorid unter

diesen Bedingungen seinen Wasserstoff leicht austauscht.

1.2.5.4. Methanol bzw. Äthanol aus höheren Alkoholen.
Im Massenspektrographen entstehen aus höheren Alkoholen unter anderem auch $-CH_2OH$ oder $-CH_2-CH_2OH$ Bruchstücke. Da die Primärvorgänge bei unserem Elektronenbrenzen und diejenigen im Massenspektrographen sehr ähnlich sind, versuchten wir das auf diese Weise eventuell entstandene, T-markierte Methanol oder Äthanol nachzuweisen. Ähnlich der DNP-Fällung, versuchten wir in einem Raströhrchen das 3,5-Dinitrobenzoat des Hexanols und Cetylalkoholzerfallsproduktes herzustellen und zu chromatographieren. Blindversuche mit CH_3OH ergaben die prinzipielle Möglichkeit der Durchführung dieser Mikromethode: zwischen 5 und 10 γ Methanol wurde nach der Überführung ins Dinitrobenzoat im im UV-Licht noch erkannt. Bei den Hauptversuchen fanden wir bei den entsprechenden R_f-Werten jedoch nur äußerst minimale Piks. Diese Art der Spaltung von Alkoholen trat bei unserer Methode also kaum auf und war als Analysenmethode nicht zu verwerten.

1.2.5.5. Resorcin aus ß-Resorcylsäure.
Als einzige analytisch verwertbare Reaktion all unserer Versuche schien uns deshalb das Dekarboxylieren der ß-Resorcylsäure geeignet. Das entstandene Resorcin war direkt markiert und außerdem schwer flüchtig. Wir fanden mit ß-Resorcyllösungen verschiedener Konzentration eine Nachweisgrenze mittels des entstandenn Resorcins von 1,56γ (siehe Abb. 20).

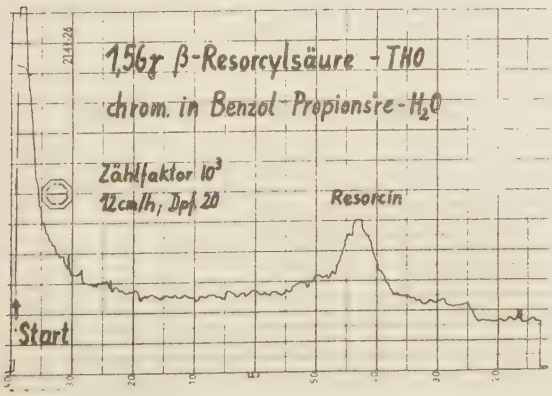


Abb. 20
1,56γ ß-Resorcylsäure + Tritiumwasser chromatographiert in Benzol/propions're/H_2O
2 2 1

Auch bei dieser Verbindung treten also wieder Rückaustausch-

reaktionen auf. Durch die Hydroxylgruppen werden anscheinend die an sich stabilen H-Atome im Kern sehr gelockert und in semilabile umgewandelt. Dies erklärt auch die gefundene Markierbarkeit von Resorcin durch einfache Austauschreaktionen bei erhöhter Temperatur. Auch die Erfassungsgrenze für den Nachweis deutet nur auf eine derartige "Gleichgewichtsmarkierung" hin. Beim Bestrahlungsprodukt des Cyclohexanols, dem Cyclohexanon, das garantiert nur durch Austausch markiert worden sein konnte, eluierten wir eine eben noch nachweisbare Menge (80 Ipm auf Dünnschicht) des 2,4-DNPs und maßen seine Extinktion bei 367mμ (Maximum des UV-Spektrums). Mittels einer aufgestellten Eichkurve bestimmten wir die Menge des DNPs zu 5,2γ. Sie lag also in derselben Größenordnung, wie die gefundenen maximal nachweisbaren Resorcinmengen.

1.2.5.6. Zusammenfassung und Ausblick.

Zusammenfassend können wir sagen, daß bei derartigen Zersetzungsreaktionen in THO, die Papierchromatographie als mikroanalytische Methode nicht oder nur in Ausnahmefällen geeignet ist. Die dabei geforderte Schwerflüchtigkeit der entstehenden Substanzen wird nur durch vorhandene hydrophile Komponenten wie Hydroxyl-, Carboxylgruppen usw. erfüllt und diese bewirken, durch die Lockerung der C - H Bindungen in ihrer Umgebung, stets einen Rückaustausch des durch die Zersetzung ins Molekül gelangten Tritiums.
Als 1. Auswegsmöglichkeit bietet sich die Gaschromatographie an. Damit wäre es möglich, die leicht flüchtigen und vor allem gasförmigen Produkte zu erfassen. Man könnte damit z.B. diejenigen Kohlenwasserstoffe, die beim Abbrechen von Seitenketten von einem größeren Molekül entstehen (Methan aus Methylgruppen usw.), nachzuwein und dadurch wertvolle Rückschlüsse auf die Konstitution des bestrahlten Moleküls ziehen.
Eine 2. Möglichkeit wäre, die Wilzbachmethode zur Markierung zu verwenden und damit die Zerstörung der Substanzen nicht in THO, sondern in Tritiumgas vorzunehmen. Dies brächte folgende Vorteile:
1. Der Zersetzungsgrad scheint bei der Wilzbachmethode beträchtlich höher zu sein, als bei uns.
2. Die Absättigung der entstehenden Radikale kann nur durch

H bzw. T - Radikale und nicht auch als unerwünschte Konkurrenzreaktion durch OH - Radikale geschehen. Es müßte allerdings sowohl bei der Wilzbachmethode, als auch bei der Zersetzung in THO erst einmal einwandfrei geklärt werden, inwieweit der Rückaustausch von einerseits stabilen und andererseits semilabilen T-Atomen vonstatten geht, d.h. wo die Gleichgewichte zwischen markierter Substanz und Markierungsmittel liegen.

2. Experimenteller Teil

1.1. Bestrahlung und Identifizierung der Carbonsäuren.

Die Säuren wurden in Glasröhrchen von ungefähr 1ml Inhalt (Innendurchmesser 5mm, Höhe 7-8cm) mit etwa 0,05 bis 0,1ml THO-Lösung (spez. Aktivität 200mC/ml) eingeschmolzen und erhitzt.

Ameisensäure	0,1ml Säure	48 Std. auf 220° C
Essigsäure	0,1ml Säure	48 Std. auf 220° C
Na-azetat	83,38mg + 200mg KOH	48 Std. auf 220° C
Bernsteinsäure	21,54mg Säure	96 Std. auf 180° C
Mandelsäure	7,42mg Säure	96 Std. auf 180° C
ß-Resorcylsäure	8,87mg Säure	62 Std. auf 60° C
Terephthalsäure	9,90mg Säure	120 Std. auf 135° C

Für die einzelnen Systeme wurden folgende R_f-Werte gefunden.

	Bu/Äth/NH_3/H_2O	Äth/NH_3/H_2O
Ameisensäure	0,37	0,61
Essigsäure	0,44	0,65
Bernsteinsäure	0,18	0,48
Propionsäure	0,53	0,74
Oxalsäure	0,08	0,25
Glykolsäure	0,32	0,58
Glyoxylsäure	0,12	0,35
Weinsäure	0,12	0,34
Mandelsäure	0,52	-

Bu/1,5n NH_3: Propionsäure 0,18; Bernsteinsäure: am Start.

Gesättigte NaCl-Lösung: Resorcin 0,50; ß-Resorcylsäure 0,29.

Benzol/Propionsäure/H_2O: Resorcin 0,56; ß-Resorcylsäure 0,395.
2 2 1

Aktivitätsmessung der Chromatogramme.

Im Radiopapierchromatographen wurde jeweils mit einem fensterlosen Methandurchflußzählrohr (FH 407) mit Spezialblende, sowie dem Zählgerät FH 49 mit gekoppeltem Linienschreiber der Firma Frieseke und Höpfner gemessen. Die Laufgeschwindigkeit der Chromatogramme betrug gewöhnlich 12cm/Std., die Dämpfung

20 sec.. Der Zählfaktor wurde je nach Aktivität des Chromatogramms eingestellt.

Chemischer Nachweis der Säuren.

Die leicht flüchtigen Säuren wurden mit Bromphenolblau nachgewiesen. Es ergab sich eine Blaufärbung auf gelbem Hintergrund. Die schwer flüchtigen Säuren wurden mit einem Säurereagenz der Firma Bayer identifiziert. 1ml der von der Firma gelieferten wässrigen Suspension des Dinatrium-dischwefelsäureesters des Dihydroindanthroazins wurde mit Wasser auf 1l verdünnt. Das Chromatogramm wurde erst mit dem Föhn, dann 10min. bei 100-120°C im Trockenschrank getrocknet (Zersetzung der Ammonsalze) und anschließend direkt mit obiger Lösung besprüht. Nach dem Beföhnen bildeten die Säuren blaue Flecken. Das überschüssige rotgefärbte Reagenz wurde mit sehr verünnter NaOH und anschließend mit viel Wasser abgewaschen.

Nachweis des Resorcins: Es wurde mit einer 2%igen wässrigen Phosphormolybdänsäurelösung und anschließend mit verdünnter NH_3-Lösung besprüht. Resorcin ergab dunkelblaue Flecken auf farblosem Hintergrund.

1.2. Synthese der ^{14}C-Benzoesäure.

Die Synthese wurde in einer von W.G.Dauben, J.C.Reid und P.C.Yankwich[10] beschriebenen Apparatur ausgeführt (Abb.21).

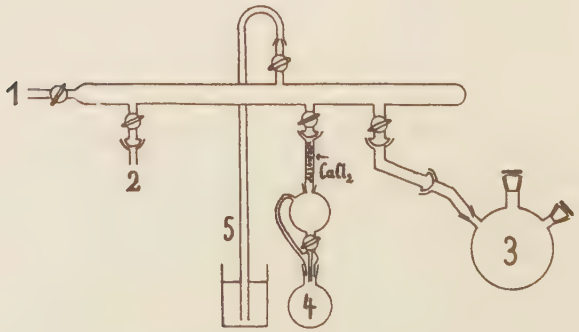


Abb. 21

Syntheseapparatur für ^{14}C-Benzoesäure.

Die Apparatur wurde bei 1 evakuiert und über 2 mit nachgereinigtem Stickstoff gefüllt. Die Grignardlösung wurde möglichst schnell in den Reaktionskolben 3 eingefüllt, mit flüssiger Luft eingefroren und die Apparatur evakuiert. Dann wurde die Lösung auf -20° C aufgetaut, wieder eingefroren und die Apparatur erneut evakuiert, um die in der Lösung eingeschlossen gewesenen Gase zu entfernen. Bei 4 wurde nun conc. H_2SO_4 sehr vorsichtig zu $Ba^{14}CO_3$ zutropfen lassen, wobei das Dewargefäß mit flüssiger Luft bei 3 gelassen wurde. Das Vakuum, gemessen am Manometer 5, blieb dabei konstant bei ungefähr 5 mm. Nachdem Die CO_2-Entwicklung praktisch zu Ende war, wurde die flüssige Luft entfernt, die Reaktionsmischung mit einem Azetonbad bis zum Flüssigwerden erwärmt und dann mit einem Magnetrührer gerührt. Die CO_2-Entwicklung bei 4 wurde vervollständigt durch gelindes Erwärmen mit der Sparflamme. Der Druck in der Apparatur stieg im Laufe von 1/2 bis 3/4 Std. auf 40 - 45 mm. Hierauf wurde mit flüssiger Luft nochmals eingefroren und das Ganze wiederholt. Nun wurde das Vakuum durch Füllen der Apparatur mit O_2-freiem Stickstoff entfernt, das überschüssige Grignardreagenz mit verd. H_2SO_4-Lösung zerstört und das Reaktionsprodukt in einen Scheidetrichter überführt (mit Äther nachspülen!). Die verdünnte H_2SO_4 - Lösung wurde 3 mal ausgeäthert, die vereinigten ätherischen Auszüge mit wenig Natronlauge ausgezogen und die alkalische Lösung mit verdünnter H_2SO_4 angesäuert. Nach 1-tägigem Stehen im Eisschrank wurde der Kristallbrei abgesaugt. Die Mutterlauge wurde erneut 3-mal ausgeäthert und wie oben weiterbehandelt.

Die Grignardlösung wurde hergestellt aus 1,5g Mg, 11g Brombenzol und 90g Äther. Sie erwies sich nach der Titration als 0,47 molar. Verwendet wurden 15ml davon.

Angewandte $BaCO_3$-Menge.

8,89mg ^{14}C-$BaCO_3$ (ungefähre Aktivität: 0,124 mC/mg) wurden mit 867,02 mg ^{12}C-$BaCO_3$ vermischt. Verwendet wurden also 875,91 mg mit einer ungefähren Aktivität von 1,265 μC/mg.

Es wurde also etwa 50% Überschuß an Grignardlösung angewandt, um möglichst quantitativ das radioaktive CO_2 zur Reaktion zu bringen.

Theoretische Ausbeute: 542 mg (bezogen auf $BaCO_3$).

Gesamtausbeute der 2 vereinigten Fraktionen: 417,11mg = 76,9 % d.Th.

Schmp. des Rohprodukts: 112 - 117°C.
Ungefähr 1mg wurden zur Reinigung zonengeschmolzen. Nach 20 Zonendurchgängen (Heizspannung 8,5 V, Laufgeschwindigkeit 2mm/Std.) hatte der Kopf des Schmelzlings (reinweiß) einen Schmp. von 122,5°, der Schwanz (schwarz) von 105 - 113°C.

1.3. Synthese der T - Benzoesäure.

1. T-markiertes Toluol.
Das benötigte p-Bromtoluol wurde aus p-Toluidin nach Sandmeyer über die Diazoniumverbindung hergestellt[17]. Sdp. 93-95° bei 43mm. Zur Bereitung der Grignardlösung wurden folgende Mengen verwandt: 5g Bromtoluol, 1g Mg und 10g Äther. Die Lösung wurde nach der Reaktion mit 90ml Äther verdünnt. Sie erwies sich nach der Titration als 0,38 molar. In einem 100ml 2-Halskolben wurden dann 0,42ml 2n HCl und 45mg THO (spez. Aktivität 200mC/ml) gebracht und unter Eiskühlung, sowie unter Stickstoffatmosphäre langsam aus einem Tropftrichter 70ml der Grignardlösung zutropfen lassen. Nach beendeter Reaktion (öfters umschütteln!) wurde die Kühlung entfernt und das Reaktionsgemisch noch ein paar Stunden bei Raumtemperatur stehen lassen. Nun wurde 3-mal ausgeäthert, nach dem Trocknen mit $CaCl_2$ der Äther abgezogen und das T-markierte Toluol über eine kleine Kolonne destilliert.
Sdp.: 107°C
Ausbeute 1,0634g = 45% d.Th.

2. Oxydation des Toluols zur Benzoesäure.
Das erhaltne Toluol wurde mit 35ml Wasser in einen 100ml Rundkolben gespült. Dazu wurden 3,5g $KMnO_4$ und 4ml einer 10%igen KOH gegeben. Anschließend wurde die Mischung 7 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die noch heiße Lösung wurde nun vom entstandenen Braunstein abfiltriert und der Braunstein dreimal mit 50ml heißem Wasser gewaschen. Das Filtrat wurde etwas eingedampft, angesäuert und 3-mal ausgeäthert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden wie oben auf Benzoesäure aufgearbeitet.
Theoretische Ausbeute: 1326mg
Ausbeute der gesammelten Fraktionen: 603mg = 46% d.Th.
Schmelzpunkt: 122°C.

1.4. Quantitative Bestimmung der Aktivitäten der beiden markierten Benzoesäuren.
Es wurde bei beiden im Gaszählrohr nach der Methode von

H.Simon gemessen[11].

1.) ^{14}C-Benzoesäure.

16,85mg der synthetisierten Säure wurden mit 16,12576g inaktiver Säure vermischt und zur homogenen Durchmischung aus Wasser umkristallisiert.

Die Volumeneichung der Apparatur zur CO_2-Bestimmung wurde mit $BaCO_3$ + ausgekochter, conc. H_3PO_4 durchgeführt. Das Mittel von 4 Versuchen ergab ein V_1 = 12,69 ml und V_2 = 28,97 ml. Mit diesen Werten wurden bei unserer ^{14}C-Benzoesäure folgende Ergebnisse erzielt.

Probe	1	2	3
Einwaage	11,86mg	8,70mg	10,24mg
$KClO_4$	112mg	116mg	79mg
Erhitzungsdauer	4 Std. bei 650°	dto.	dto.
Volumetrisch ermittelter C-Gehalt	69,05%	68,77%	68,37%
Mittelwert	68,73%		
Theor. Gehalt	68,87%		
Gefundene Aktivität	3395 Ipm/mg	3412 Ipm/mg	3389 Ipm/mg
Mittelwert	3399 Ipm/mg		

Die absolute Aktivität wurde von Dr. Simon mit einem, mittels eines Standards geeichten, Zählrohr bestimmt und betrug 5133 Ipm/mg = $2{,}31 \cdot 10^{-3}$ µC/mg.

Unsere Zählausbeute betrug also 65,1%.

Die synthetische, unverdünnte Benzoesäure besaß demnach eine Aktivität von $958 \cdot 2{,}31 \cdot 10^{-3}$ µC/mg = 2,213µC/mg.

Fehler:

Die Abweichung unseres ermittelten Kohlenstoffgehaltes vom theoretischen Wert betrug 0,2%. Die maximale Abweichung der Impulsraten vom Mittelwert 0,38%. Der sehr geringe Fehler bei der quantitativen Bestimmung des C-Gehaltes kann zufällig sein und ist nicht die Regel. Es wurden noch mehrere Blindversuche mit inaktiver Benzoesäure unternommen und die Genauigkeit der Methode nachgeprüft. Wir fanden dabei Abweichungen der Mittelwerte vom theoretischen Wert bis zu 1%.

Wie schon erwähnt, wurde in der ersten Kühlfalle, zur Absorp-

tion des entstehenden Wassers, keine Azeton-Trockeneismischung verwandt, sondern die Falle wurde mit P_2O_5 gefüllt.
Bei der Volumeneichung mit $BaCO_3$ wurde das Rohr zum Zertrümmern der Glasampullen durch ein 2-schenkliges Glasrohr ersetzt. In den einen Schenkel wurde die abgewogene Menge $BaCO_3$ eingefüllt, in den anderen conc. Phosphorsäure. Nach dem Evakuieren wurde durch Drehen des Glasrohres die Phosphorsäure in den $BaCO_3$-Schenkel gespült und CO_2 entwickelt.
Gemessen wurde mit einem Zählrohr, sowie Zählgerät der Firma Berthold. Die Plateaukurven ergaben ein Plateau von etwa 500 V mit genügend geringer Steigung (siehe Tabelle 13).

kV	3,2	3,3	3,4	3,5	3,6	3,7	3,8	3,9	4,0
Ipm	7466	14441	19217	22113	25442	26956	28116	29178	29339
kV	4,1	4,2	4,3	4,4	4,5	4,6	4,7	4,8	4,9
Ipm	29900	30079	30238	30253	30389	31289	32083	32530	33387

Abb. 13
Beispiel einer erhaltenen Plateaukurve (Probe 2).

Die Meßzeit betrug gewöhnlich 30 min.. Der mittlere statistische Fehler der Zählapparatur betrug für diese Bedingungen:

$$F = 100\sqrt{\frac{1}{i \cdot t}} = 100\sqrt{\frac{1}{29682 \cdot 30}} = 0{,}106\%$$

i = Impulsrate, beim Beispiel der Probe 2: i = 8,70·3412 = = 29682 Ipm. t = Meßzeit = 30 min..

2.) T-Benzoesäure.
Wie bei ^{14}C wurde auch hier, in einer zweiten von H.Simon beschriebenen Apparatur, im Gasfüllzählrohr gemessen. 10mg Benzoesäure wurden zu diesem Zweck mit inaktiver Säure auf das 1000-fache verdünnt und die Aktivität der erhaltenen, verdünnten Säure bestimmt.

Probe	1	2	3
Einwaage	5,01mg	7,20mg	11,12mg
Erhitzungsdauer	5 Std. 650° C	dto.	dto.
Meßzeit	190min.	170min.	150min.
gefundene Aktivität	467 Ipm/mg	460 Ipm/mg	463 Ipm/mg
Mittelwert	463 Ipm/mg		

Zählrohrausbeute 49,8%.
Das ergibt eine absolute Aktivität von 930Ipm/mg = $4{,}19 \cdot 10^{-4}$ µC/mg.
Die synthetisierte Benzoesäure besaß demnach eine Aktivität von 0,419µC/mg.
Mittlerer statistischer Fehler (Probe 2): $F = 100\sqrt{\frac{1}{170 \cdot 3310}} =$
$= 0{,}133\%$.

1.5. Nachweis des beim Decarboxylieren entstandenen $^{14}CO_2$.

In das W-förmige Glasrohr (Innendurchmesser 2mm, Länge eines Schenkels ungefähr 5cm) wurden eingeschmolzen:

20,21mg ^{14}C-Benzoesäure (2,213µC/mg) + 110,1mg 12,8n NaOH

21,20mg T-Benzoesäure (0,419µC/mg) + 117,5mg 12,8n NaOH

Dauer der Strahleneinwirkung: 120 Tage.
Als in einem weiteren Versuch die Einwirkungszeit der Strahlung auf 190 Tage erhöht wurde, stieg die entstandene $^{14}CO_2$-Menge im selben Verhältnis von 2567 Ipm auf 4161 Ipm.
Die Aufarbeitung der Natronlauge geschah folgendermaßen. Die Lauge wurde mit einer Medica-Recordspritze vorsichtig abpipetiert und, vereint mit etwas frischer Lauge, die zum Nachspülen des Glasrohrs verwandt wurde, in einem Wägeschiffchen in den Exsiccator gestellt. Nach längerem Spülen mit CO_2 wurde dieser über Nacht stehen lassen. Die gesamte Lauge lag dann als $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ vor. Wurde der Exsiccator evakuiert, so erhielten wir Na_2CO_3 ohne Kristallwasser, wie die quantitativen C-Analysen zeigten. Das Wägeschiffchen und Phosphorsäure wurden dann direkt in die 2 Schenkel des oben beschriebenen Rohres überführt und an die Apparatur angeschlossen.

Erhaltene C-Werte: 10,0% C beim Evakuieren des Exsiccators.

3,27% ohne Evakuieren

Theoretische Werte: Na_2CO_3 11,3% C

$Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ 4,2% C

Die Meßdauer bei den Aktivitätsmessungen betrug jeweils 30 min., die Zählrohrspannung 4,2 kV. Die Plateaulängen betrugen gewöhnlich 500 - 600 V.

2.1. Alkohole.

Reinigen der Ausgangsmaterialien von den entsprechenden Car-

bonylverbindungen bzw. Säuren.

Hexanol.

20g Hexanol wurden mit verd. NaOH im Scheidetrichter die sauren Bestandteile entzogen. Die Hexanolschicht wurde abgetrennt, getrocknet mit Na_2SO_4 und über eine Raschigkolonne destilliert. Siedepunkt der mittleren, verwendeten Fraktion: 155°. Theoretischer Sdp.: 155,8°. Die Fraktion erwies sich als Säure und Aldehydfrei.

Cyclohexanol.

50g wurden in Alkohol gelöst und mit einer salzsauren DNP-Lösung das vorhandene Cyclohexanon ausgefällt. Es wurde abfiltriert und das Filtrat ausgeäthert. Die Ätherschicht wurde getrocknet und dann im Vakuum destilliert. Sdp.: 88°/46mm.

Cetylalkohol.

Er wurde in einer Mikrozonenschmelzapparatur zonengeschmolzen. Heizspannung 5V, 180 Zonendurchgänge. Schmp. des Zonenschmelzlings vorn (farblos): 48,5°, hinten (gelb): ab 35°. Theoretischer Schmp. 49,1°.

Angewandte Mengen.

7,03mg Hexanol + 6,7mg THO (5C/ml) 46 Std. auf 153°C.
10,0mg Cyclohexanol + 7,55mg THO (5C/ml) 168 Std. bei ZT.
2,75mg Cetylalkohol + 6,43mg THO (5C/ml) 41 Std. auf 160°C.

Zur Prüfung auf Säuren wurde zu Hexanol und Cetylalkohol etwas Natronlauge gegeben und die wässrige Phase chromatographiert. Bei der Prüfung auf Carbonylverbindungen wurde jeweils eine genau gleiche Probe parappel analysiert, die jedoch kein THO enthielt. Es wurden bei diesen Parallelversuchen beim Cyclohexanol das Keton in Spuren, beim Hexanol kein Hexanal gefunden. Die IR-Spektren der DNPs wurden in der üblichen Weise durch Eluieren mit sehr reinem Äther, Verdunsten des Äthers usw. hergestellt. Gewöhnlich standen so große Substanzmengen zur Verfügung, daß bequem ein Mikropressling hergestellt werden konnte.

2.2. Bestimmung der Aktivitätsverteilung einer Dünnschichtplatte.

1.) Fehler bei der Messung einer Probe ohne Veränderung der Oberfläche und Schichtdicke.

Es wurde eine Probe in kurzen Abständen gemessen. Wir erhielten folgende Impulsraten (Meßzeit 1 min.).

646 Ipm 672 632 639 656 628 673 630 615 639

Mittel: 643 Ipm.
Maximale Abweichung vom Mittelwert: ±4,5%

2.) Fehler bei der Messung einer Probe mit Veränderung der Oberfläche und Schichtdicke.
Die Probe wurde nach jeder Messung in ein anderes Al-schälchen gebracht, durcheinandergemischt und dann wieder mit dem Spatel möglichst gleichmäßig auf das Al-Schälchen verteilt.
Wir erhielten folgende Impulsraten:

639 684 662 673 654 615 643 613 655 655

Mittel: 649 Ipm.
Maximale Abweichung vom Mittelwert: ±5,5%.
Zu all diesen Versuchen benutzten wir einen Methandurchfluß-zähler (FH 51) der Firma Frieseke und Höpfner. Plateaulänge des Zählplateaus: 800V (3,3 - 4,1 kV) Plateausteigung: 187 Ipm/100 V, gemessen wurde gewöhnlich bei 3,55 kV. Meßzeit zwischen 1 und 10 min., je nach gewünschter Genauigkeit. Diskriminatorstellung 10, Nulleffekt um 60 Ipm.

Vergleich mit der Radiopapierchromatographie.
1,25mg ^{14}C-Benzoesäure (2,213µC/mg) wurden in 2ml 0,05n NaOH gelöst. Mit einem vorher geeichten Kapillarrohr wurden sowohl auf Papier, als auch auf eine Dünnschichtplatte folgende Mengen aufgetragen:

Probe 1: 0,007ml = 4,4γ Benzoesäure = $9{,}737 \cdot 10^{-3}$ µC

Probe 2: 0,014ml = 8,8γ Benzoesäure = $1{,}947 \cdot 10^{-2}$ µC

Probe 3: 0,021ml = 13,2γ Benzoesäure = $3{,}895 \cdot 10^{-2}$ µC

Wir erhielten folgende Impulsraten (Mittelwert aus meist 4 verschiedenen Versuchen).

	1	2	3	NE
Radiopapierchromatograph	703 Ipm	1370	1770	98
Dünnschicht	2267	4751	5939	45
Dünnschicht nach 2 Wochen	2970	5812	7489	57

3. Doppelbindungen.

Cyclohexen wurde über eine Kolonne mit Raschigringen destilliert. Verwendet wurde die Fraktion vom Sdp. 82 - 82,5°. Mit

DNP wurde keine Fällung erhalten.
Folgende Gemische wurden papierchromatographiert:

9,07mg Cyclohexan + 9,59mg THO (200mC/ml) 3 Tage bei 170°

9,22mg Cyclohexen + 7,30mg THO (200mC/ml) 3 Tage bei 170°

10,52mg Cyclohexadien + 10,44mg THO (200mC/ml) 3 Tage bei 170°

Für das Ausfällen des DNPs wurde folgendes Gemisch verwendet:

4,66mg Cyclohexen + 5,33mg THO (5C/ml) 6 Tage bei ZT.

Cyclohexan-1on-2ol wurde dargestellt aus Cyclohexanon durch Bromierung und anschließender Verseifung. Cyclohexandion durch Oxydation von Cyclohexanon mit SeO_2. Die DNPs wurden in Alkohol gefällt. Nach 2-maligem Umkristallisieren schmolzen die gemischten DNPs des Cyclohexan-1on-2ols um 222°, diejenigen des Cyclohexandions bei 252°.
Die vergleichenden Chromatogramme anderer Aldehyde und Ketone ergaben auf Dünnschicht in Benzol-Chloroform 1:1 folgende R_f-Werte (alle auf einen gefundenen Durchschnittswert von 0,65 der unbekannten 1.Fraktion des Cyclohexenzerfallsproduktes bezogen):

Hexanal 0,775 Methylpentanal 0,73 2-Hexenal 0,725

Adipindialdehyd 0,7 Pentanal 0,69 Glutardialdehyd 0,65

Cyclohexanon 0,625 2-Cyclohexenon 0,61 Cyclopentanon 0,61

4. Aminosäuren.

Angewandte Mengen zur Chromatographie:

3,33mg Glycin + 7,84mg THO (5C/ml) 2 Tage auf 137°

3,9 mg Alanin + 12,3 mg THO (5C/ml) 3 Tage auf 137°

3,4 mg Valin + 6,92mg THO (200mC) 30 Tage bei ZT.

2,33mg Phenylalanin + 8,66mg THO (200mC) 30 Tage bei ZT.

2,79mg Anilinhydrochlorid + 7,4mg THO (5C) 2 Tage auf 137°

1,79mg ß-Alanin + 5,16mg THO (5C) 2 Tage auf 137°

2,71mg Sulfanilsäure + 6,26mg THO (5C) 2 Tage auf 137°

Chromatographiert wurde in Bu/EE/H_2O 4:1:1 absteigend, sowie in Äth/NH_3/H_2O 80:4:16 und Bu/Äth/NH_3/H_2O 4:4:1:1 aufsteigend. Gefundene R_f-Werte der Vergleichssubstanzen (siehe Tab.):

	Bu/EE/H_2O	Äth/NH_3/H_2O	Bu/Äth/NH_3/H_2O
Glycin	0,10	0,25	0,13
Alanin	0,22	0,38	0,25
ß-Alanin	0,23	0,48	-
Phenylalanin	-	0,64	-
Valin	0,52	0,60	-
Sulfanilsäure	-	0,50	-
Glykolsäure	0,57	0,39	0,25
Glyoxylsäure	0,25	0,31	0,12
Oxalsäure	0,30	0,25	0,08
Essigsäure	-	0,64	0,44
Propionsäure	(0,84)	0,74	0,52
Bernsteinsäure	0,69	0,46	0,18
Weinsäure	0,37	0,36	0,12
Milchsäure	0,62	0,55	0,42
Brenztraubensäure	0,73	0,20 + 0,51	0,15 + 0,46
Äpfelsäure	0,50	-	-
Asparaginsäure	0,08	-	-
Hydrazin	0,04	0,44	0,36
Hydroxylamin	0,28	0,54	0,42
Ammoniak	0,32	-	-
Methylamin	0,39	-	-
Äthylamin	0,41	Grenze	-
Äthylendiamin	0,28	"	-

Hydrazin und Hydroxylamin wurden auch noch in Äther-Methanol-conc. HCl 25:15:10 chromatographiert. R_f-Werte: Hydrazin 0,16, Hydroxylamin 0,42.
Nachgewiesen wurden sie mit Pikrylchlorid/NH_3. Hydrazin ergab eine braun-violette, Hydroxylamin eine orange Färbung.

5. Verwendung der Zerfallsprodukte zur Analyse.

Nachweis des T - H Austausches von NH_4Cl.
Angewandte Mengen:

114,2mg NH_4Cl + 577,93mg THO (0,1µC/ml) 3 Tage auf 150°C.

Gemessen wurden 29,83mg T-NH_4Cl im FH 51.
Gefundene Impulsrate: 230 Ipm.

Überführung der Alkohole in die 3,5-Dinitrobenzoate.

Zu einer Mischung aus 10mg der THO/Alkohollösung + 1mg einer 10%igen benzolischen Pyridinlösung + 11mg K_2CO_3 wurden in einem Raströhrchen unter Eiskühlung 2,5mg einer 25%igen benzolischen Lösung von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid gegeben. Die entstandene Mischung wurde 5min. mit einem Mikrorührer durcheinandergemischt und dann noch 15 min. stehen lassen. Anschließend wurde mit 3 mal 30mg Äther extrahiert und die vereinigten Ätherauszüge in einem 2. Raströhrchen mit etwas 0,1%iger Schwefelsäure vom Pyridin befreit. 5 - 10γ Methanol konnten auf diese Weise nach dem Chromatographieren noch erkannt werden.

Nachweisgrenzen der ß-Resorcylsäure.

Verschieden konzentrierte Lösungen von ß-Resorcylsäure wurden mit THO erhitzt und dann chromatographiert. Die kleinste nachweisbare Menge wurde in folgendem Versuch erhalten:
13,88mg ß-Resorcylsäure wurden in 100ml H_2O gelöst. 11,90mg Lösung (= 1,56γ Säure) + 8,64mg THO (2mC/mg) 2 Tage auf 150°C. Nach dem Chromatographieren wurde an der Stelle des Resorcins mit Phosphormolybdänsäure nur eine äußerst schwache Blaufärbung erhalten.

Bestimmung der Nachweisgrenze des Cyclohexanons.

Das UV-Spektrum des DNPs in $CHCl_3$ ergab ein $\lambda_{max.}$ = 367 mµ.

Gefundene Extinktionen der Vergleichslösungen.

Konz. der Lsg.	3,59 γ/ml	7,18	14,35	28,70
log E	0,30	0,62	1,19	2,38

Das ergab folgende Eichkurve (Abb. 22).

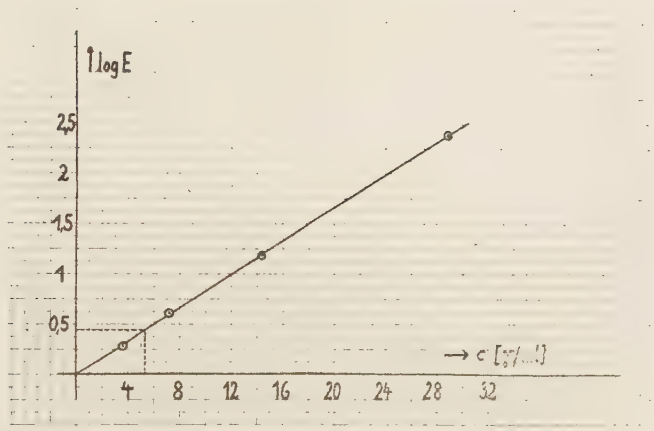


Abb. 22
Eichkurve des Cyclohexanon-2,4 DNPs.

Die zu bestimmende Lösung wurde vom Kieselgel der Dünnschichtplatte herauseluiert, eingedunstet und in 1ml $CHCl_3$ gelöst.
Gefundene Extinktion: 0,44;
Das ergab eine Konzentration von 5,2 γ/ml.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1.) M.Ebert — Angew. Chemie 67, 169 (1955)

2.) M.Burton — J. Am. chem. Soc. 73, 523 (1951)

3.) K.E.Wilzbach — Atomkonferenz in Kopenhagen RICC/278 (1960)

4.) M.Ebert — Disc. Far. Soc. 1952 S.198

5.) H.Schildknecht, O.Volkert — unveröffentlicht

6.) H.Schildknecht, G.Rauch, F.Schlegelmilch — Chemikerzeitung 83, 549 (1959)

7.) W.L.Whitehead, C.Goodman, I.A.Breger — J.chim.Phys. 48, 184 (1951)

8.) M.Burton, J.Magee — J.Am.chem.Soc. 73, 524 (1951)

9.) J.Weiß — J.Am.chem.Soc. 72, 2704 (1950); 73, 405 (1951)

10.) W.G.Dauben, J.C.Reid, P.E.Yankwich — Org. Syntheses with isotopes Band I, S.86

11.) H.Simon, H.Daniel, I.F.Klebe — Angew. Chemie 71, 303 (1959)

12.) W.R.McDonell, A.S.Newton — J.Am.chem.Soc. 76, 4651 (1954)

13.) A.Narath, D.Gundlach — Angew. Chemie 72, 707 (1960)

14.) J.Weiß — J.Am.chem.Soc. 76, 66 (1954)

15.) E.J.Hart — Radiation Research 2, 135 (1955)

16.) W.Mund, P.Huyskens — Bull.Class.Sci.Acad.Roy.Belgien 36, 610 (1950)

17.) L.A.Bigelow — Org. Syntheses, coll.Vol.1 S.130

Dem Bundesministerium für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft danken wir für die großzügige finanzielle Unterstützung.

L e b e n s l a u f

Am 1.4.1935 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Karl Volkert und seiner Ehefrau Emma Volkert, geb. Stahl in Fürth/Bay. geboren.
Von September 1941 bis Juli 1946 besuchte ich die Volksschule in Fürth - Burgfarrnbach. Im September 1946 wechselte ich in die Oberrealschule Fürth über, wo ich 1954 die Reifeprüfung ablegte.
Im Wintersemester 1954 begann ich an der Universität Erlangen mit dem Chemiestudium. Hier bestand ich im Juli 1957 die Diplomchemiker-Vorprüfung und im Juli 1959 die Diplomchemiker-Hauptprüfung. Bis Dezember 1960 arbeitete ich an meiner Diplomarbeit, von Januar 1961 bis Juli 1962 an der vorliegenden Arbeit.